Vol. 8 1937



ARCHIVOS
DO
INSTITUTO BIOLOGICO



SECRETARIA DA AGRICULTURA
SÃO PAULO
BRASIL

Os Archivos do Instituto Biologico apparecem sob a forma de artigos separados publicados á medida de sua apresentação, os quaes annualmente são reunidos em um volume, que pode ser adquirido por permuta ou compra pelo preço marcado na capa.

Os artigos separados, impressos em numero limitado, são obtidos apenas por permuta.

Toda correspondencia referente aos Archivos deve ser dirigida ao Director do Instituto Biologico, Caixa Postal 2821, São Paulo, Brasil.

Director - Prof. Dr. H. da Rocha Lima

The "Archivos do Instituto Biologico" appear in the form of separate articles published as they are presented, and are annually united in one volume, which may be acquired by exchange or purchase at the price indicated on the cover.

The separate articles, a limited number of which is printed, may be obtained by exchange.

All correspondence referring to the "Archivos" should be addressed to-Director do Instituto Biologico, P. O. Box 2821-São Paulo, Brazil.

PREÇO DESTE NUMERO 20$000

Vol. 8 1937

ARCHIVOS

DO

INSTITUTO BIOLOGICO



SECRETARIA DA AGRICULTURA
SÃO PAULO
BRASIL

SUMMARIO

(CONTINÚA NO VERSO)



Vol. 8 — Art. 1 Outubro de 1937

NOVAS ESPECIES DE COCCIDEOS (HOMOPTERA) DO BRASIL

POR

Adolph Hempel

Trabalho do Instituto Biologico de S. Paulo

Com 33 figuras no texto

A presente publicação encerra as descripções de um genero e vinte especies novas de coccideos, todas provenientes do Brasil; com isso, já montam a mais de trezentas as especies deste grupo conhecidos no paiz, ou indigenas ou importadas. Com a descripção das duas novas especies de *Conchaspis,* são quatro as especies desse genero conhecidas entre nós. Mais uma especie que forma galhas foi encontrada, para a qual foi necessario delinear o novo genero *Neotectococcus.*

Uma especie interessante é o *Aspidiotus eugeniae,* muito semelhante á *Aonidiella aurantii* (MASK.) e *Aonidiella citrinus* (COQ.), porém com caracteres distinctos.

Das vinte especies descriptas, o Estado de S. Paulo forneceu 17, Rio de Janeiro 2 e Matto Grosso 1.

Deixo aqui os meus agradecimentos ao Snr. H. S. LEPAGE pelo abundante e interessante material remettido, e á senhorita R. S. CARVALHO e aos Snrs. C. R. FISCHER e J. F. TOLEDO pelos desenhos que serão encontrados no texto.

ERIOCOCCINAE

Eriococcus campinensis HEMPEL, n. sp.

A femea forma um sacco espesso, feltrado, não pegajoso, achatado, com a extremidade posterior virada para cima e provida de um pequeno orificio circular. Algumas estrias transversaes são apenas perceptiveis. A côr é creme; porém é difficil saber a sua côr normal, pois todos os exemplares estão cobertos pela fumagina, produzida por um fungo preto, que não permitte distinguir a côr primitiva. O sacco mede cêrca de 3 mm. de comprimento e 2 mm. de largura.

O sacco do macho é tambem feltrado, estreito, achatado, de forma elliptica, e mede cêrca de 2,25 mm. de comprimento e 1 mm. de largura. Os saccos, tanto do macho como da femea, estão agglomerados na casca da planta.

Fervida em uma solução de KOH, a femea adulta mostra a derme molle e transparente. As antennas são bem desenvolvidas, medindo cêrca de 0,286 mm. de comprimento, e compõem-se de sete articulos, os quaes têm as seguintes dimensões: (*) 1, 42; 2, 34-42; 3, 59-68; 4, 42-55; 5, 21-29; 6, 25-29; 7, 42. Todos os articulos, menos o terceiro, têm pellos, tendo-os o ultimo em numero de 10 ou mais. As patas são robustas, tendo as juntas

(*) As dimensões, quando não especificadas de outra maneira, são dadas em micromillimetros (0,001 mm.).

do primeiro par as seguintes dimensões: coxa, 68; femur e trochanter, 178-195; tibia, 118; tarso, 131-136; unha, 34-42. A unha tem um pequeno denticulo perto da extremidade. Os digitulos são compridos, com as pontas dilatadas, medindo os do tarso 68 de comprimento. Tanto o tarso como a tibia estão guarnecidos com diversos pellos. Os olhos são pequenos. Os lobulos anaes são grandes, com áreas chitinisadas, um grande pello terminal e quatro ou mais pellos lateraes bem menores.

O annel anal tem 8 pellos grandes. A derme tem, na parte dorsal, grande numero de espinhos grossos e ponteagudos e quasi sempre um pouco curvos, pequenos e grandes, apparentemente dispostos em carreiras transversaes, dos quaes os maiores medem cêrca de 85 de comprimento. Na pelle ha ainda pellos, bem como numerosas glandulas cylindricas com os poros pequenos e circulares. Na coxa não foram observados poros.

A larva não foi observada dentro do corpo da femea, mas foram observados alguns exemplares soltos. Tem o corpo de forma elliptica, com as antennas e patas bem desenvolvidas. O corpo mede cêrca de 0,399 mm. de comprimento e 0,212 mm. de largura. As antennas medem 0,127 mm. de comprimento e compõem-se de seis articulos, dos quaes o terceiro é o mais comprido. Os lobulos anaes são bem desenvolvidos. No dorso do corpo ha seis carreiras de espinhos grossos e ponteagudos.

Hab. Campinas, Estado de São Paulo, sobre *Tephrosia candida,* (Leguminosae). Remettido em 30 de Outubro de 1934, pelo Instituto Agronomico do Estado. O typo está encorporado nas collecções deste Instituto sob o numero 361.

A presente especie tem caracteres semelhantes aos de *Eriococcus brasiliensis* CKLL., porém tem as antennas maiores e os espinhos do corpo muito maiores e um pouco curvos.

Eriococcus piptadeniae HEMPEL, n. sp. (Figs. 1-5).

A femea está incluida em um sacco espesso e feltrado, não pegajoso, fusiforme, um pouco achatado, com sulcos transversaes indicados e com a extre-

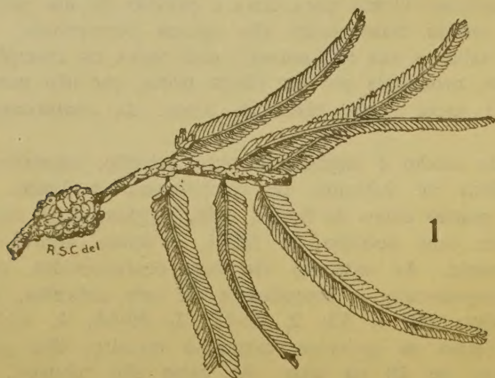
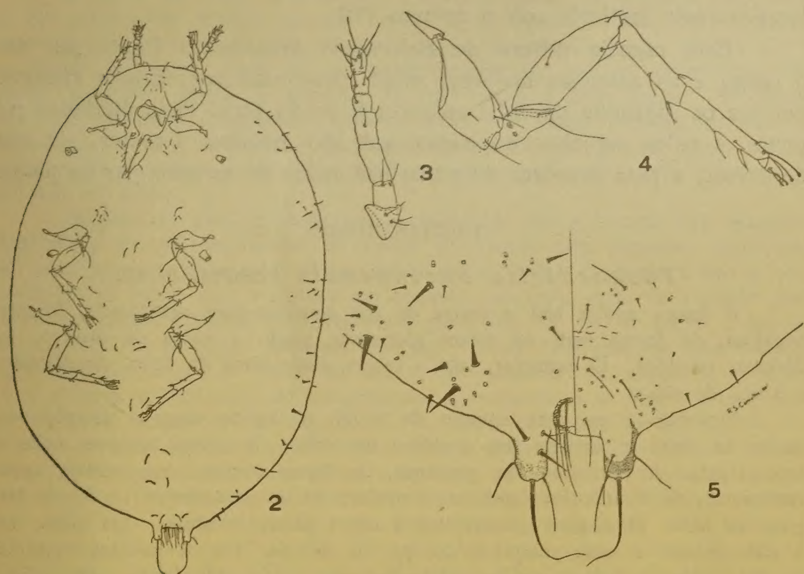


Fig. 1 — *Eriococcus piptadeniae,* n. sp. - Insecto sobre a planta, tamanho natural.

midade posterior um pouco virada para cima e provida de um pequeno orificio circular. A côr é branca, um pouco amarellada (côr creme). O sacco mede cêrca de 3 mm. de comprimento e 1,70 mm. de largura.

O sacco do macho é de côr branca, levemente tingido de côr creme, estreito, de forma elliptica, um pouco achatada, com a extremidade posterior aberta. Mede cêrca de 2 mm. de comprimento e 0,800 mm. de largura.

Fervida em uma solução de KOH, a femea adulta mostra a derme molle e transparente. As antennas são grandes, medindo de 0,293 mm. a 0,309 mm. de comprimento e compõem-se de sete articulos, os quaes têm as seguintes dimensões: 1, 42; 2, 34-42; 3, 51-59; 4, 68-72; 5, 25-34; 6, 25-30; 7, 36-42. Todos os articulos, menos o terceiro, têm pellos, tendo o ultimo cêrca de 10. As patas são grandes, tendo as juntas do primeiro par as seguintes dimensões: coxa, 76; femur e trochanter, 212-237; tibia, 110-127; tarso, 140-144; unha, 34.



Eriococcus piptadeniae, n. sp. - Fig. 2 — Femea adulta, augmentada. Fig. 3 — Antenna, muito augmentada. Fig. 4 — Pata, muito augmentada. Fig. 5 — Femea adulta, extremidade posterior do abdomen, muito augmentada.

Os digitulos são grandes, notadamente os do tarso, que medem 59 de comprimento, e têm a extremidade dilatada. A unha tambem é grande e tem um denticulo perto da extremidade. A tibia e o tarso têm diversos pellos grossos. Na coxa do terceiro par de patas ha 3 a 6 pequenos poros de forma circular a oval. Os lobulos anaes são grandes, quasi inteiramente chitinisadas, tendo cada um, um comprido pello terminal e 4 pellos na margem interior. O annel anal tem 8 pellos compridos e grossos. Os olhos são grandes. Ha no dorso muitos espinhos grossos e agudos, grandes e pequenos, dispostos em carreiras transversaes; os maiores desses espinhos medem cêrca de 55 de comprimento.

Na derme ha ainda numerosas glandulas cylindricas com o orificio pequeno e de forma circular. Tanto os saccos da femea como os do macho são geralmente agrupados em grande numero nas axillas das folhas.

A larva embryonaria tem o corpo fusiforme ou em forma de clava, largo atravez do thorax, e mede cêrca de 0,534 mm. de comprimento e 0,255 mm. de largura. As antennas são bem desenvolvidas, com seis articulos, dos quaes o terceiro é o mais comprido, medindo as antennas 0,127 mm. de comprimento. Os lobos anaes são bem desenvolvidos. Ha no dorso seis carreiras simples, longitudinaes, de espinhos grossos e agudos; e no lado ventral ha numerosos pellos. Os olhos são bem visiveis.

Hab. No municipio de Itatinga, Estado de São Paulo, sobre angico do campo, *Piptadenia falcata* BENTH., onde foi encontrada pelo autor em 17 de Janeiro de 1935. O typo está encorporado nas collecções deste Instituto sob o numero 710.

Esta especie differe de *Eriococcus brasiliensis* CKLL. por ter o corpo e as antennas maiores; e de *Eriococcus campinensis* HEMPEL por ter os digitulos da unha menores e os do tarso mais dilatados na ponta, e pelos espinhos do corpo, que são menores e rectos, em vez de curvos, e pela presença de poros nas coxas do terceiro par de patas.

TACHARDIINAE

Tachardiella ourinhensis HEMPEL, n. sp.

A femea adulta tem a resina de côr amarello-clara esverdeada, luzente, pegajosa, de forma mais ou menos globulosa, sendo a resina de diversos individuos reunidos. O exemplar, com a resina, mede cêrca de 4 mm. de diametro e 3 mm. de altura.

Fervendo-se em uma solução de KOH, o liquido tinge-se de côr vermelha de vinho e tambem tem o cheiro de vinho. A derme torna-se molle e transparente. As antennas são pequenas, de forma conica, compondo-se, apparentemente, de 3 articulos fundidos, e medem 93 de comprimento e 51 de largura na base. O ultimo articulo tem 3 ou 4 pellos terminaes, dos quaes um é mais grosso e mais comprido do que os demais. Foram notados vestigios de dois pares de patas, em forma de pequenos cones chitinisados. O espinho dorsal é direito, tem 110 de comprimento, com a base espessa e um pouco ondulada, a qual mede cêrca de 80 de diametro. O annel anal é chitinisado e mede 276 de diametro. O corno anal tem 221 de largura e está guarnecido com placas bifidas que medem 42 de comprimento. Os pellos anaes, em numero de 10, têm 230 de comprimento e são muito divergentes um do outro. Ha doze grupos ou placas de glandulas submarginaes, de forma ovoide, os quaes medem 119-161 de comprimento e 85-119 de diametro transversal. Estes grupos têm um poro grande na extremidade menor, e o restante é semelhante a um disco cribriforme com numerosas perfurações minusculas e 4 a 8 poros maiores. As glandulas laciferas são numerosas e reunidas em dois maços ovaes, os quaes medem cêrca de 187 de comprimento e 153 de diametro transversal. Entre esses maços ha 4 grupos de pequenas glandulas conicas, tendo cada grupo

de 27 a 35 glandulas. Existe ainda em cada lado, na região lateral do rostro, um grupo oval de glandulas semelhantes, tendo cada grupo cêrca de 40 a 60 glandulas.

Hab. Ourinhos, Estado de São Paulo, sobre uma planta *Myrtaceae* cultivada. O typo foi encorporado nas collecções deste Instituto sob o numero 711.

A côr, a consistencia da resina e a forma distinguem esta especie de qualquer outra do genero, já conhecida.

LECANIINAE

Ceroplastes deodorensis HEMPEL, n. sp.

A forma da femea adulta, com a cera, é conica, de contorno oval, pois é um pouco mais estreita do que longa. A cêra está dividida em 9 placas; sendo 3 lateraes em cada lado, uma anterior, uma posterior e uma dorsal, que é a maior. A cêra é dura, de côr branco-pardacenta, com o vertice amarello-claro. O nucleo dorsal é pequeno, de côr branca e bem visivel. As placas são bem distinctas e separadas uma da outra por linhas estreitas, pardas. A superficie da cêra é marcada por linhas circulares concentricas e por outras radiaes. O exemplar maior mede 5,500 mm. de comprimento, 4 mm. de largura e 5 mm. de altura.

Despido da cêra, o corpo tem a superficie lisa e luzenta com margens depremidas e grossas, tendo ao redor do corpo oito pequenas saliencias, as quaes correspondem ás 8 placas marginaes de cêra. O dorso é liso e sem saliencia. O corno anal é apenas um pequeno tuberculo perto da margem posterior do corpo, dirigido horizontalmente para traz. A côr do corpo é pardo-escura, sendo mais escura ainda na margem, e mede 4,500 mm. de comprimento, 3,250 mm. de largura e 3 mm. de altura. As antennas são pequenas, medindo de 0,287 mm. a 0,291 mm. de comprimento, e compõem-se de seis articulos com as seguintes dimensões: 1, 34; 2, 46; 3, 106; 4, 30-34; 5, 25; 6, 46. O terceiro articulo é tão comprido como os tres ultimos reunidos. Todos os articulos estão guarnecidos com pellos compridos. As patas são normaes, porém, pequenas, com as seguintes dimensões: primeiro par, coxa, 102; femur e trochanter, 192; tibia, 136; tarso, 76; unha, 25; segundo par, coxa, 102; femur e trochanter, 195; tibia, 127; tarso, 78; unha, 25; terceiro par, coxa, 102; femur e trochanter, 199; tibia, 127; tarso, 80; unha, 21. Os dois digitulos tarsaes são delgados, com a extremidade distal um pouco dilatada, e medem 55 de comprimento. Os digitulos da unha são grandes e largos, com a extremidade distal largamente dilatada, e medem 38 de comprimento. O rostro, pequeno, situado entre o primeiro e segundo par de patas, está guarnecido com 4 pares de pellos compridos. Os espiraculos são pequenos, com as duas extremidades largamente dilatadas, sendo a exterior a mais larga, com um grupo irregular de cêrca de 20 pequenas glandulas circulares. Os espiraculos anteriores estão situados na altura do primeiro par de patas o os posteriores quasi ao lado do ultimo par. Ha na derme ventral, perto da extremidade posterior do corpo, grande numero de glandulas circulares, as quaes medem 4 de diametro. A derme ventral está um pouco chitinisada ao redor da margem e nesta parte tambem ha pequenos poros ou glandulas. Nas margens lateraes e anterior do corpo ha uma carreira irregular, ás vezes dupla, de pequenas glandulas em forma de bolota, as quaes

são maiores na região estigmatica. Ao redor do corpo ha duas carreiras de pellos, sendo os de uma carreira mais numerosos e mais compridos do que os da outra.

O ovo é pequeno, de forma oval e de côr parda, medindo cêrca de 0,284 mm. de comprimento e 0,162 mm. de diametro transversal.

Hab. Deodoro, Estado do Rio de Janeiro, sobre galhos de *Annonaceae*. Remettido em 3 de Agosto de 1934, pelo Snr. W. Zikán. O typo foi encorporado na collecção deste Instituto sob o numero 360.

Os caracteres e forma do corpo e das antennas e a côr da cêra distinguem esta especie das outras já conhecidas.

Inglisia australis Hempel, n. sp.

A casca da femea é dura e quebradiça, de forma pyramidal com a base quasi quadrangular e dois cones obtusos no dorso. Um sulco mediano, longitudinal divide a casca em duas partes. A superficie interior da casca é lisa, luzente, nacarada, com estrias irradiantes, e tem a côr branca ou creme. Os individuos estão cobertos pelo mycelio preto de um fungo, mas, isenta do fungo, a superficie exterior da casca é tambem luzente e de côr branca. O insecto enche inteiramente o interior da casca e tem a côr rosea no lado ventral. Os individuos estão densamente agglomerados nos galhos e ao longo da nervura mediana das folhas da planta. Os exemplares maiores medem 3 mm. de comprimento, 2,250 mm. de largura e 2 mm. de altura.

A femea adulta, depois de fervida em uma solução de KOH, torna-se transparente com a derme molle. As antennas são pequenas, geralmente com 5 articulos, porém ha tambem exemplares com as antennas de 6 articulos. As de cinco articulos medem: 1, 17-21; 2, 8-12; 3, 42; 4, 8-10; 5, 23-25. As de 6 articulos medem: 1, 25; 2, 8; 3, 42; 4, 8; 5, 8; 6, 17. O penultimo articulo tem 1 ou 2 pellos e o ultimo cêrca de 7. As patas são pequenas, curtas e grossas, medindo as juntas do primeiro par: coxa, 51; femur e trochanter, 68; tibia, 25; tarso, 25; unha, 8. A articulação entre o tarso e o femur não é muito distincta. Os digitulos, tanto os do tarso como os da unha, são pequenos. As placas anaes são grandes, curvadas, e são guarnecidas, na margem interior, com cêrca de 5 ou 6 pellos grandes, maiores do que os do annel anal. Estes são em numero de seis. As placas anaes são circumdadas por uma área chitinisada em forma de ferradura. Ao redor do corpo ha uma carreira simples, marginal, de espinhos agudos, os quaes têm a base larga e medem cêrca de 25 de comprimento. A distancia entre os espinhos varia, conforme os exemplares, de 16 a 32 ou mais. A região estigmatica é assignalada por um espinho mais grosso e comprido e, ás vezes, curvo. Ha, no lado dorsal, acompanhando a carreira de espinhos marginaes, uma carreira dupla de pequenas glandulas circulares, sendo as de uma menores de que as da outra. Da margem anterior das placas anaes até a margem anterior do corpo ha uma carreira tripla de pequenas glandulas circulares. Na superficie ventral, perto das placas anaes, ha diversas áreas com numerosos pellos muito pequenos; e no restante da superficie ha pellos maiores e glandulas tubulares. Entre os espiraculos e o espinho marginal ha cêrca de 24 glandulas circulares.

Hab. São Paulo, (Capital), sobre *Galactia stenophylla*, uma planta cultivada. Remettido em 18 de Julho de 1936, pelo Snr. Dr. F. C. HOEHNE. O typo foi encorporado na collecção deste Instituto sob o numero 712.

A presente especie é distincta de *Inglisia conchiformis* NEWSTEAD pelo tamanho menor e antennas menores. E' semelhante a *Inglisia zizyphi* BRAIN, porém nesta especie os espinhos marginaes são mais numerosos, ha duas carreiras de pequenas glandulas circulares no dorso entre as placas anaes e a margem anterior do corpo, as placas anaes têm menor numero de pellos e falta a carreira dupla de pequenas glandulas circulares que acompanham os espinhos marginaes.

Pseudokermes palmae HEMPEL, n. sp.

A femea adulta, com a casca, é pyriforme, de dorso alto, formando dois cones indistinctos, com um sulco mediano longitudinal, e a extremidade posterior afinada um pouco saliente. A superficie é um pouco aspera e embaçada, com linhas indistinctas irradiantes das vertices. A casca é formada de duas metades reunidas pelo sulco longitudinal, com a superficie pardo-escura, tendo a casca inteira mais ou menos a forma de uma semente de uva, porém de menores dimensões. Os exemplares maiores medem 3 mm. de comprimento, 2 mm. de largura e 1,750 mm. de altura, sendo mais alto e largo atravez a parte anterior do corpo.

Fervida em uma solução de KOH, a derme torna-se molle e transparente. Antennas e patas não foram observadas e certamente não existem. Ao redor do corpo ha uma carreira marginal de espinhos grossos os quaes têm cêrca de 17 de comprimento e distam, um do outro, cêrca de 38. Ha ainda uma carreira de pequenas glandulas discoides, de forma circular, ao lado da carreira de espinhos marginaes; outras destas glandulas circulares estão espalhadas na derme. No dorso ha uma carreira longitudinal, mediana, dupla ou tripla, de pequenas glandulas circulares, extendendo-se da margem anterior do corpo até á margem anterior do annel chitinisado que circumda as placas anaes. Este annel é vasiforme, com a parte anterior mais larga e grossa e com a extremidade acuminada, e está perfurado com 40 a 50 ou mais perfurações ou cellulas de forma e tamanho irregulares. As placas anaes são pequenas, curvas, e têm, na margem interior ou mediana, cêrca de cinco ou mais pellos grossos e compridos. Os espiraculos parecem ter a forma cylindrica, medindo cêrca de 34 de diametro transversal e 51 de comprimento. Na região estigmatica ha apenas um espinho marginal um pouco mais comprido do que os demais.

O macho não foi observado.

Hab. São Paulo, (Capital), sobre folhas de palmeira cultivada. Encontrado em Julho de 1934, pelo Snr. E. J. HAMBLETON. O typo foi encorporado na collecção deste Instituto sob o numero 359.

Esta especie não pode ser confundida com outra, pois differe bastante de *Pseudokermes nitens* CKLL., tanto pela forma, diversa, como pelo tamanho, menor.

Lecanium transparens HEMPEL, n. sp.

A femea é grande, chata, asymetrica, de côr amarello-clara, esverdeada, com uma area central, de forma alongada, de côr escura. Na folha, ao redor do corpo, ha fios quebrados de cêra, delgados e luzentos. Não foi observada nenhuma camada de cêra no dorso do insecto. O corpo mede 10,500 mm. de comprimento, 5,500 mm. de largura e 0,500 mm. de altura.

Depois de fervida em uma solução de KOH, a derme, tanto ventral como dorsal, tornou-se molle e transparente. O dorso não está dividido em areas ou placas, mas ha poucos alveolos, os quaes são muito indistinctos. As antennas são grandes, compõem-se de seis articulos e medem de 0,467 mm. a 0,480 mm. de comprimento. Os articulos medem: 1, 60-68; 2, 60-68; 3, 187-200; 4, 46; 5, 38; 6, 68. As patas são robustas, tendo as juntas do primeiro par as seguintes dimensões: coxa, 93; femur e trochanter, 246-263; tibia, 136; tarso, 110; unha, 25. Os digitulos, tanto os do tarso como os da unha, são bem desenvolvidos. As cavidades estigmaticas são pequenas e pouco fundas e não foi possivel determinar o numero de espinhos nellas existentes. Ao redor da margem ha uma carreira simples de espinhos pontudos, os quaes medem cêrca de 34 de comprimento, sendo o espaço entre dois espinhos geralmente um pouco maior do que o comprimento delles. Ha ainda uma carreira simples, intramarginal, de grandes glandulas ciriparas, das quaes foram contadas 38. Estas medem cêrca de 64 de comprimento e compõem-se de uma parte inferior reticulada, de forma oval, que mede 30 de largura; uma parte mediana, cylindrica, de menor largura, e a parte superior, um pouco mais grossa e de forma conica, a qual tem um delicado pello no apice. Estas glandulas têm a forma e estructura das glandulas intramarginaes de *Eucalymnatus delicatus* HEMPEL, sp. n., sendo, porém, maiores. As duas placas anaes são largas, tendo cada um tres pellos curtos e um comprido perto da extremidade. Têm o angulo externo arredondado e o lado postero-lateral mais comprido do que o antero-lateral. Os pellos anaes são apparentemente em numero de dez, e muito mais compridos do que as placas anaes.

Hab. São Paulo, Capital, sobre a pagina superior de uma folha de um arbusto cultivado no jardim da Luz. Encontrado em 3 de Dezembro de 1935, pelo Snr. H. S. LEPAGE. O typo está encorporado na collecção deste Instituto sob o numero 713.

O numero das glandulas intramarginaes e a forma e tamanho dellas distingue esta especie de qualquer outra deste genero.

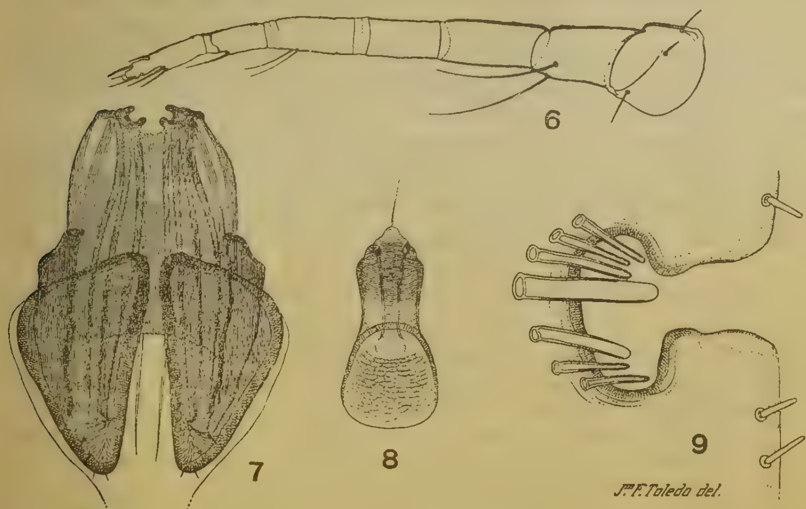
Eucalymnatus delicatus HEMPEL, n. sp. (Figs. 6-9).

A femea adulta tem o corpo asymetrico, chato, e mede cêrca de 5 mm. de comprimento e 3 mm. de largura. A superficie dorsal está coberta por uma camada delgada de cêra transparente, e mostra nitidamente as carenas pouco elevadas que limitam as divisões ou areas da derme. A côr varia de amarello-clara a castanho-escura.

Depois de fervida em uma solução de KOH, a derme torna-se transparente e molle, sendo de extrema delicadeza, ao ponto de difficultar a sua preparação. As antennas e patas estão bem desenvolvidas. As antennas medem de 0,479 mm. a 0,529 mm. de comprimento e compõem-se de sete articulos com

as seguintes dimensões: 1, 60-68; 2, 68-76; 3, 93-102; 4, 60-68; 5, 72-76; 6, 50-60; 7, 72-85. As juntas do primeiro par de patas têm as seguintes dimensões: coxa, 119; femur e trochanter, 255-288; tibia, 187-212; tarso, 76-93; unha, 17. Estão presentes os dois digitulos tarsaes e ungueaes, tendo estes ultimos as extremidades bem dilatadas.

A derme dorsal é molle e transparente e está dividida em áreas irregulares por meio de suturas ou carenas transparentes, nas quaes são visiveis poros ou glandulas ciriparos de forma circular e em dois tamanhos, sendo os maiores os mais numerosos. Não foram observados poros ou placas cribriformes. Existem, em numero variavel, glandulas ciriparas, intramarginaes. Um exemplar tem 21 destas glandulas, sendo 11 situadas em um lado do corpo e 10 no outro lado. Outros exemplares têm apenas 18, 16 ou 15 dessas glandulas, assim distribuidas: em cada lado, na parte anterior do corpo, adeante



Eucalymnatus delicatus, n. sp. - Fig. 6 — Antenna augmentada. Fig. 7 — Placas e pellos anaes, augmentados. Fig. 8 — Glandula intramarginal, muito augmentada. Fig. 9 — Cavidade estigmatica, muito augmentada.

da região estigmatica anterior, duas glandulas; 1, 2 ou 3 glandulas na área entre as regiões estigmaticas, sendo 2 o numero mais commum; e as restantes entre a cavidade estigmatica posterior e a extremidade posterior do corpo. Essas glandulas têm cêrca de 42 de comprimento e compõem-se de tres partes, sendo a base reticulada e em forma de um globo, medindo 25 de diametro; a parte central forma um pequeno cylindro com diametro menor, e a parte superior mais espessa e obtusamente conica, com um pequeno pello apical. As placas anaes são grandes, medindo a margem interna 187; a margem postero-lateral, que é convexa, 161; e a margem antero-lateral, que é recta, 110. O angulo exterior é arredondado. Perto da margem posterior de cada placa ha dois pellos curtos e mais dois marginaes. Os pellos anaes, apparentemente em

numero de dez, são grossos e muito mais compridos do que as placas anaes. A fenda anal mede 0,680 mm. de comprimento. Na derme, perto da margem anterior das placas anaes, ha muitas pequenas glandulas ciriparas, circulares.

As cavidades estigmaticas são grandes, de forma hemispherica, e geralmente guarnecidas por sete espinhos rombos, dos quaes o do meio é o maior, com 50 a 76 de comprimento, diminuindo o comprimento dos demais successivamente até os menores, que têm 34. Ao redor da margem do corpo ha uma carreira simples de pequenos espinhos truncados, com 25 de comprimento. A distancia entre um e outro desses espinhos varia, porém é geralmente maior do que o seu comprimento.

O escudo do macho é formado de placas de cêra branca, tem a forma elliptica, e mede cêrca de 3 mm. de comprimento e 1 mm. de largura.

Hab. Municipio de Bofete, Estado de São Paulo, encontrado pelo autor em 20 de Agosto de 1936, sobre um arbusto silvestre do campo. Os individuos, tanto do sexo masculino como feminino, achamse agrupados ao longo da nervura mediana da folha, e são acompanhados por uma formiga do genero *Camponotus*. O typo foi encorporado na collecção deste Instituto sob o numero 714.

Tem esta especie uma semelhança superficial com o *Eucalymnatus scutigerus* C. LIMA, porém é bem distincta pelo tamanho menor, pela consistencia do integumento dorsal, e pelo numero, forma e situação das glandulas intramarginaes.

Eucalymnatus hirsutus HEMPEL, n. sp.

A femea tem o corpo aproximadamente symetrico, de forma largamente oval, sem secreção cerea apparente no dorso ou na margem. O dorso é chato, duro, e de côr pardo-clara. Os exemplares medem cêrca de 4,200 mm. de comprimento e 2,940 mm. a 3,124 mm. de largura.

Depois de fervido em uma solução de KOH, o dorso conserva-se rigido, e torna-se molle e transparente a derme ventral. Na parte marginal do dorso ha cêrca de 24 suturas ou carenas que a dividem em outras tantas areas mal definidas, sendo as divisões apenas na parte marginal. Na parte central do dorso ha numerosos pellos e poros circulares que a dividem em áreas irregulares. Na parte marginal do dorso ha numerosos alveolos claros e de forma oval e tambem circular.

As antennas medem de 0,398 mm.-0,407 mm., e geralmente compõem-se de seis articulos com as seguintes dimensões: 1, 42-51; 2, 68; 3, 136; 4, 42; 5, 42-51; 6, 59. Em um exemplar o articulo 3 estava dividido em dois, os quaes juntos mediam 136. Os articulos 1, 2, 3 e 6 têm pellos compridos. O articulo sexto tem 8 pellos ou mais, um dos quaes tem duas vezes o comprimento do articulo. As patas são grandes, tendo as juntas do primeiro par as seguintes dimensões: coxa, 93-110; femur e trochanter, 212-229; tibia, 144-152; tarso, 97-102; unha, 21. Os digitulos estão presentes, sendo os da unha muito grandes e largos. O trochanter tem um pello comprido. As placas anaes são largas, medindo o lado interno, que é reforçado, 127; o lado anterolateral, que é um pouco concavo, 93; e o lado postero-lateral, que é convexo, 102. Perto da extremidade posterior de cada placa ha 4 ou mais pequenos

pellos. Ha apparentemente 10 grandes pellos anaes. A fissura anal tem as margens contiguas e mede cêrca de 0,800 mm. de comprimento. Ao redor do corpo ha uma carreira simples de 170 pellos marginaes, ou mais. Estes pellos são finos, têm a extremidade fina e curvada e medem 16-20 de comprimento. A distancia entre os pellos é variavel, mas geralmente muito maior do que o seu comprimento. As concavidades estigmaticas são pouco profundas, sendo cada uma guarnecida com tres grossos espinhos pontudos, um dos quaes é mais comprido do que os demais. Na derme ventral ha, em cada área estigmatica, que vae do estigma até a margem lateral, cêrca de 60 ou mais poros circulares, pequenos. Na região da abertura genital ha tambem 60 ou mais poros ou glandulas circulares, sendo estes, porém, um pouco maiores do que os das regiões estigmaticas. Logo adiante da abertura genital ha seis pellos compridos dispostos em duas carreiras longitudinaes, divergentes, cada uma com 3 pellos. Estes pellos medem cêrca de 85 de comprimento. Glandulas intramarginaes e discos cribriformes não foram observados.

Hab. Alto da Serra, Estado de São Paulo, sobre um arbusto silvestre, onde foi encontrado pelo Snr. H. S. Lepage, em Outubro de 1934. O typo foi encorporado na collecção deste Instituto sob o numero 715.

O tamanho maior das antennas e patas, a ausencia de glandulas tubulares e a presença de pellos marginaes, servem para distinguir esta especie da seguinte.

Eucalymnatus rigidus Hempel, n. sp.

A femea, ainda não adulta, tem o corpo um pouco asymetrico, oval, achatado, com o dorso dividido em 21 áreas irregulares, sendo 10 em um lado e 11 no outro, por sulcos ou carenas visiveis apenas na peripheria e área submarginal. Não foi observado nenhuma secreção cerosa. O unico exemplar mede 5.500 mm. de comprimento e 3,500 mm. de largura. A côr é pardo-clara com a peripheria mais escura.

Depois de fervida em uma solução de KOH, a derme mostra-se de uma consistencia firme, conserva a sua forma e ainda tem a côr pardo-clara, com uma estreita área marginal um pouco mais escura. A região submarginal está dividida em 21 áreas irregulares, por sulcos ou carenas transparentes, irradiantes, sendo visiveis, nesta região, muitos alveolos claros e de forma oval ou circular. Ha ainda perceptiveis, esparsos no dorso, pequenos pontos transparentes, apparentamente correspondentes a poros ou glandulas. Discos cribriformes e glandulas especiaes intramarginaes não foram observados.

As antennas medem de 0,334 mm.-0,347 mm. e compõem-se de seis articulos com as seguintes dimensões: 1, 42-51; 2, 68; 3, 119-123; 4, 29; 5, 25; 6, 51; sendo o terceiro o maior e o quinto o menor. As juntas do primeiro par de patas medem: coxa, 76; femur e trochanter, 187; tibia, 123-131; tarso, 59-68; unha, 17. Os digitulos, tanto os do tarso como os da unha, são bem desenvolvidos. As placas anaes são grandes, com o angulo lateral arredondado. O lado antero-lateral mede 144 de comprimento; o lado postero-lateral, mede 118; e o lado mediano mede 195. Em cada placa ha um pequeno pello marginal na extremidade posterior, e mais um outro perto da margem. A fissura

anal tem as bordas contiguas e mede 1,420 mm. de comprimento. As cavidades estigmaticas são pouco profundas e apparentemente não têm mais do que tres espinhos. Outros espinhos ou pellos marginaes não foram observados. Circumdando o corpo, no lado dorsal, e na área submarginal, ha 100 ou mais glandulas tubulares, muitas das quaes desembocam na margem. Ha ainda pequeno numero dessas glandulas afastadas da margem. Ao redor da abertura genital, na derme ventral, ha cêrca de 50 glandulas chatas e circulares, e diversos pellos compridos. Ha apparentemente 10 grandes pellos anaes.

Hab. Horto Florestal, São Paulo, sobre a folha de uma arvore silvestre, onde foi encontrado pelo autor em Outubro de 1934. O typo está encorporado na collecção deste Instituto sob o numero 716.

Esta especie é semelhante a *Eucalymnatus brunfelsia* HEMPEL, porém differe della pela estructura do dorso, pelo numero menor de áreas dorsaes, pelo tamanho e forma oval do corpo, e pela falta de pellos ou espinhos marginaes.

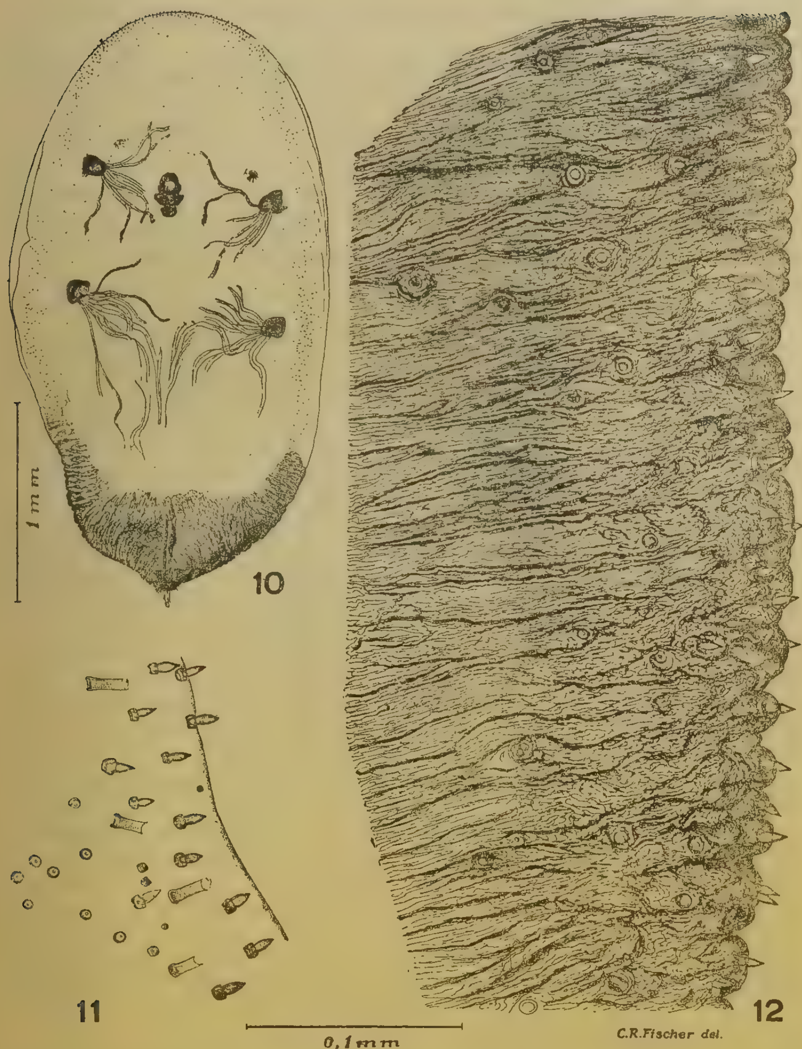
Aclerda santensis HEMPEL, n. sp. (Figs. 10-12).

A femea tem o corpo achatado, asymetrico, de forma oval ou oblonga, com a extremidade anterior arredondada e a posterior obtusa. Ha geralmente uma secreção cerosa, branca e pulverulenta nas margens do corpo. Os individuos vivem em baixo das bainhas das folhas e são extremamente achatados. Os exemplares maiores medem 6 mm. de comprimento e 3,500 mm. de largura.

Fervida em uma solução de KOH, a derme torna-se molle e transparente, menos na extremidade posterior, que é espessa e chitinisada. Ha individuos que têm uma área estreita, marginal, ao redor do corpo, chitinisada. As antennas são representadas por pequenos tuberculos chatos, cada um com 7 ou 8 pellos, e estão situadas logo adiante o primeiro par de espiraculos. Não foram observados vestigios das patas. Os espiraculos são grandes e de forma cylindrica. A parte posterior do corpo é espessa e chitinisada, com a margem crenulada e a superficie mostrando muitos sulcos, uns sinuosos e outros rectos. Esta parte tem 16 ou mais pellos terminaes. As placas anaes modificadas têm tambem de 6 a 8 pellos terminaes. Os pellos anaes são compridos e em numero de cêrca de 20. Ao redor do corpo ha numerosos espinhos marginaes, ás vezes formando 4 ou mais carreiras. Estes espinhos são curtos e grossos; têm a base grossa e a parte terminal pontuda, em forma de ponta de lança. Esses espinhos encontraram-se tambem na margem e entre os sulcos da extremidade posterior do corpo. Ha na margem, tambem, entre os espinhos, certo numero de glandulas ciriparas tubulares ou cylindricas.

O casulo do macho é branco, feltrado, estreito e comprido, medindo cêrca de 2 mm. de comprimento e 0,500 mm. de largura, com as extremidades arredondadas. O macho é de côr pardo-clara, tem as antennas com 10 articulos, as asas largas, as patas compridas, com o femur grosso e a tibia e tarso providos de pellos rigidos. O segmento terminal do abdomen tem, em cada lado, um ou dois pellos compridos, e entre estes o curto orgão genital.

A larva é pequena, de côr pardo-clara, com o corpo de forma elliptica, medindo cêrca de 0,578 mm. de comprimento e 0,237 mm. de largura. As antennas medem 0,120 mm. de comprimento e compõem-se de 6 articulos, dos quaes o primeiro é globoso e o mais largo de todos; o segundo é o mais



Aclerda santensis, n. sp. - Fig. 10 — Femea augmentada. Fig. 11 — Espinhos marginaes, muito augmentados. Fig. 12 — Margem chitinisada do corpo, muito augmentada.

curto e o terceiro o mais comprido; o sexto é pyriforme e tem um tufo de cêrca de seis pellos, um dos quaes é extremamente comprido. Os olhos são grandes e de côr pardo-escura. Os lobulos anaes estão bem patentes no ultimo segmento do corpo, tendo cada um, um comprido pello terminal. Ao redor

do corpo ha uma carreira simples de 68 a 70 espinhos marginaes, lanceolados e agudos.

Hab. Santos, Estado de São Paulo, sobre uma planta *Graminaceae* silvestre, onde foi encontrado em 3 de Outubro de 1934, pelo Snr. H. S. LEPAGE. O typo está encorporado na collecção deste Instituto sob o numero 618. E' parasitado por um micro-hymenoptero.

Esta especie distingue-se de *Aclerda campinensis* HEMPEL pelo tamanho menor e pela forma e abundancia dos espinhos marginaes da femea, e pelas antennas e espinhos marginaes da larva.

ASTEROLECANIINAE

Asterolecanium sanbernardensis HEMPEL, n. sp.

A casca da femea adulta é de forma aproximadamente circular, com uma franja marginal simples. O dorso é geralmente liso nos exemplares velhos e um pouco abahulado. Nos exemplares mais novos ha uma leve indicação de uma carena mediana longitudinal, e outras transversaes, sendo o dorso mais achatado. A côr é alaranjada com a margem e a franja de côr amarello-clara. Os exemplares maiores medem cêrca de 1,700 mm. a 1,760 mm. de diametro, sem a franja. O diametro transversal da casca é geralmente um pouco menor do que o longitudinal, 1,600 mm. A franja é formada de fios que medem cêrca de 182 de comprimento. Os individuos estão habitualmente localisados na pagina inferior das folhas, onde produzem covas profundas, as quaes são indicadas na pagina superior por elevações conicas correspondentes.

Fervida em uma solução de KOH, a femea adulta torna-se transparente, com a derme fina e delicada. O corpo tem o contorno circular. Ao redor da margem ha uma fileira simples de grandes glandulas duplas, em forma de 8, e outra fileira simples de pequenas glandulas circulares, que acompanha a fileira de glandulas duplas, quasi até os lobulos anaes. Na derme não foram observadas glandulas duplas, mas ha numerosas glandulas tubulares, as quaes são geralmente um pouco curvas e têm uma das extremidades um pouco mais grossa que a outra. Estas glandulas medem cêrca de 25 de comprimento. Ha ainda na derme, especialmente grupadas na parte anterior do annel anal, cêrca de 100 glandulas circulares, as quaes têm cêrca do dobro do diametro das glandulas semelhantes marginaes. Os estigmas são grandes e ao lado de cada um, até a margem lateral, ha uma carreira de 30 ou mais glandulas pequenas, circulares, com o diametro das marginaes. Os dois lobulos anaes são grandes, sobresaem da extremidade posterior do corpo, chitinisados, terminando cada um em um comprido pello e tres espinhos, cada qual de tamanho differente, tendo o maior dobro o tamanho do menor. Os pellos terminaes medem 76 de comprimento. O annel anal é reforçado e tem seis pellos grossos que medem cêrca de 34 de comprimento. As antennas são representadas por pequenos tuberculos, cada um com tres pellos rectos, grossos e compridos, sendo um, um pouco menor que os demais.

Hab. São Bernardo, Estado de São Paulo, sobre uma planta silvestre, onde foi encontrado em Abril de 1934, pelo Snr. H. S. LEPAGE. O typo foi encorporado na collecção deste Instituto sob o numero 279.

Esta especie pode, a primeira vista, ser confundida com o *Asterolecanium pustulans* (CKLL.), porém distingue-se pelo tamanho menor e pela ausencia de glandulas duplas em forma de 8 na derme do corpo.

APIOMORPHINAE?

Neotectococcus, nov. gen.

Insecto que produz e vive dentro de galhas na planta. As antennas e patas são bem desenvolvidas e normaes. Os olhos são grandes. Faltam annel anal, lobulos anaes e pellos anaes. Estigmas abdominaes não foram observados. Ha no lado dorsal thoracico uma área densamente guarnecida com grandes espinhos agudos e pellos compridos. O restante da pelle é guarnecido com pequenos tuberculos, espinhos e pellos compridos. Genotypo *Neotectococcus lenticularis* sp. n.

Neotectococcus lenticularis HEMPEL, n. sp. (Fig. 13)

A femea constroe pequenas galhas lenticulares nas folhas da planta hospedeira, sendo as galhas um pouco concavas no lado superior das folhas e um pouco convexas no lado inferior. As galhas têm a forma circular, medem cêrca de 3 mm. de diametro, têm um pequeno orificio no centro no lado inferior, e a côr um pouco mais clara do que o restante da folha.

A femea adulta tem o corpo pyri ou cordiforme, com a pelle coberta de pequenos tuberculos, espinhos agudos, dos quaes alguns são rectos e outros curvos, e de pellos compridos, especialmente na parte abdominal, onde estão dispostos em carreiras transversaes e entremeadas com numerosas glandulas circulares. O corpo mede 1,116 mm. de comprimento e 0,852 mm. de largura. Os olhos são grandes e salientes e estão situados bem na margem anterior do corpo, sendo o espaço entre um e outro de cêrca de 0,425 mm. As antennas são bem desenvolvidas e compõem-se de 5 ou 7 articulos, sendo porém difficil distinguir o numero exacto dos articulos, visto serem as articulações chitinisadas. O comprimento das antennas é de cêrca de 0,187 mm., tendo os articulos as seguintes dimensões: 1, 42-51; 2, 34; 3, 34; 4, 34; 5, 34. Em certos individuos parece que o quinto articulo está dividido, tendo então o quinto articulo 17 e o sexto 25 de comprimento. Em uma antenna de sete articulos estes medem: 1, 42; 2, 42; 3, 34; 4, 17; 5, 17; 6, 17; 7, 25. Ha casos em que o quarto articulo está dividido e outros em que o dividido é o quinto. As patas são muito grandes e grossas para o tamanho do corpo do insecto. As juntas do primeiro par medem: coxa, 195; femur e trochanter, 255; tibia, 170; tarso, 42; unha, 17. O trochanter caracteriza-se por uma grande convexidade guarnecida por um pello comprido. Na coxa ha tambem um outro pello comprido. Outros pellos não foram observados nas patas. Os digitulos, tanto os da unha como os do tarso, são filiformes e quasi imperceptiveis. A unha é recta, larga e achatada, com um pequeno dente na extremidade, e tem a forma semelhante á do bico de um abutre. Faltam pellos e tuberculos anaes. A derme do corpo é molle porém toda a superficie está coberta por pequenos tuberculos ou verrugas, os quaes são mais numerosos e maiores na

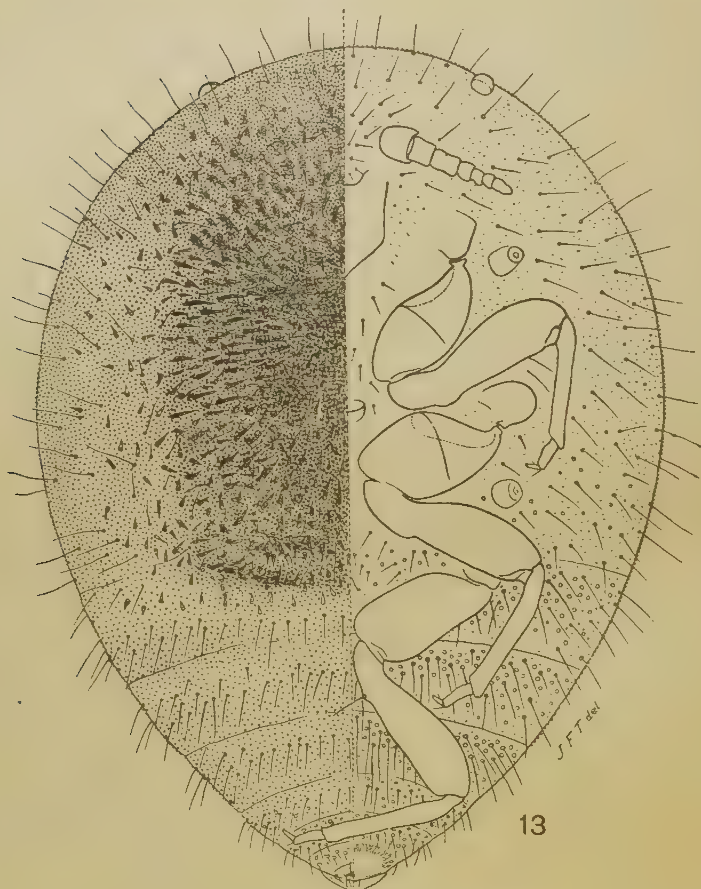


Fig. 13 — *Neotectococcus lenticularis,* n. sp. - Femea adulta, augmentada.

região cephalica; ha tambem nesta região numerosos espinhos grossos, rectos e curvos.

As galhas do macho são mais salientes, tanto na pagina superior como na inferior da folha; têm tambem um diametro menor e apresentam mais a forma de um tubo com a abertura bem visivel na pagina inferior da folha.

Hab. No campo, no municipio de Itatinga, sobre um arbusto silvestre, onde foi encontrado pelo autor em 18 de Outubro de 1935. O typo foi encorporado na collecção deste Instituto sob o numero 717.

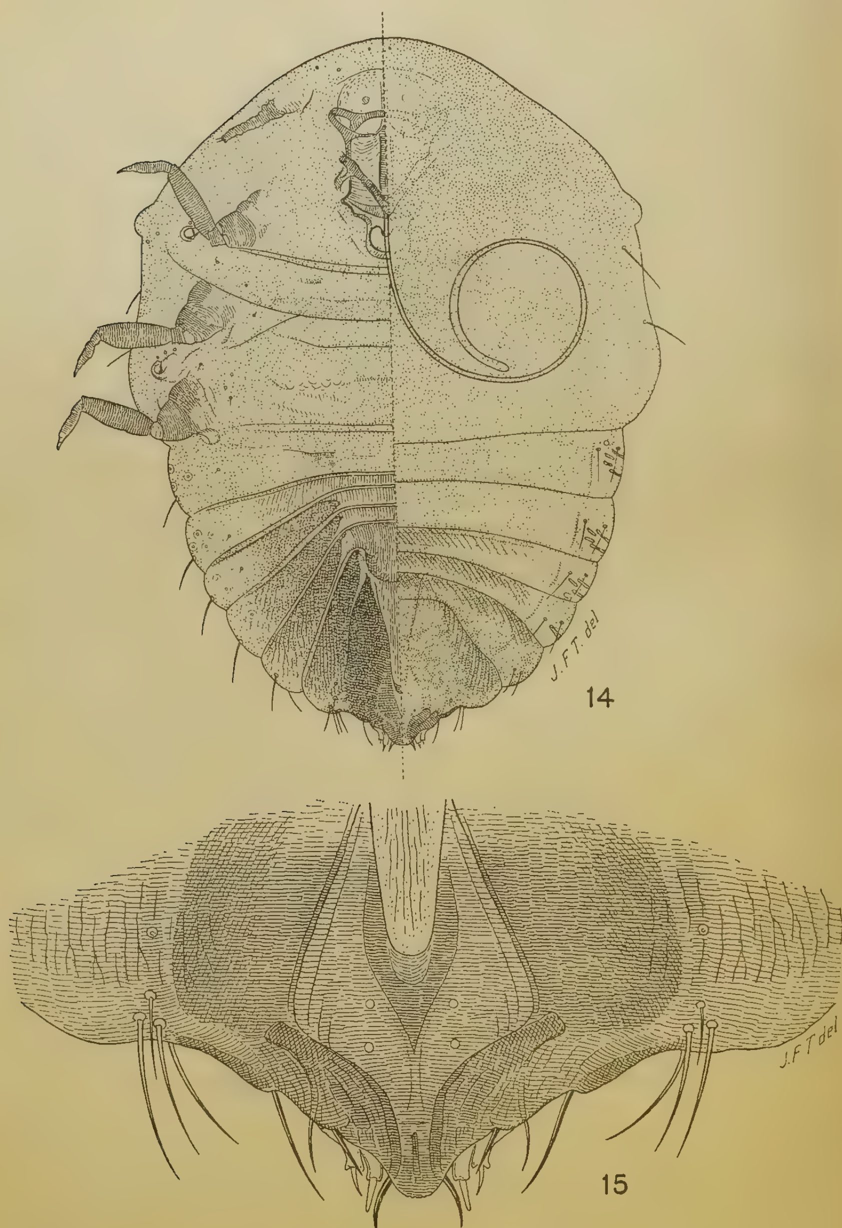
Esta especie é distincta de qualquer outra já descripta, pela estructura da pelle, pelo tamanho das patas e pela forma da unha.

CONCHASPINAE

Conchaspis lata HEMPEL, n. sp. (Figs. 14-15).

O escudo da femea é de forma circular com o centro um pouco elevado e tem a côr branco-cinzenta ou pardo-clara, tendo a semelhança de lichens fixas na casca da arvore. O escudo maior mede 4,250 mm. de diametro; porém habitualmente os escudos individuaes são menores e agrupados um em cima do outro, junto com os escudos do macho. Estes ultimos são menores, de fórma alongada, um pouco curva, e medem cêrca de 2 mm. de comprimento e 1 mm. de largura; são mais brancos do que os da femea. Estes grupos ou colonias de individuos podem compor-se de 9 ou mais escudos de femea e outros tantos de macho. Um grupo foi contado com 10 escudos de macho, porém nem sempre são agrupados em baixo de um escudo de femea; podem tambem ser collocados em cima do escudo da femea. De um outro grupo foram destacados 9 escudos da femea, cada um com um insecto perfeito. O interior do escudo da femea é branco nacarado.

A femea tem o corpo largamente oval, com a maior largura atravez do thorax. Os exemplares seccos têm a côr parda. Depois de fervido em uma solução de KOH, o corpo conserva a sua forma, e a derme torna-se transluzente e de côr pardo-clara. A superficie, tanto da derme ventral como da dorsal, é marchetada como couro chagrem. Ha em cada margem lateral do corpo, na região entre o primeiro e segundo par de patas, um pequeno tuberculo arredondado. Os exemplares maiores medem cêrca de 1,176 mm. de comprimento e 0,877 mm. de largura. As antennas são pequenas, medem cêrca de 0,127 mm. de comprimento e compõem-se, apparentemente, de tres articulos, com as seguintes dimensões: 1, 80-85; 2, 25-30; 3, 17. O segundo articulo tem um pello comprido e grosso, e o ultimo tem tufo terminal de 3 a 4 pellos grossos e compridos. As patas são pequenas. Não ha articulação entre a tibia e o tarso. As juntas do primeiro par medem: coxa, 42; femur, 136; tibia e tarso, 68; unha, 17. Na coxa ha 2 pellos e na tibia um. Os digitulos não foram observados. A extremidade posterior do corpo termina em um lobulo largo, arredondado, situado entre um par de placas fortes, simples e pontudas. Ha tambem duas hastes chitinisadas que se extendem quasi até a altura da abertura genital. Esta tem a forma semicircular e dista da extremidade posterior do corpo cêrca de 0,250 mm. No primeiro segmento abdominal ha, em cada lado, perto da margem lateral, uma invaginação de forma mais ou menos circular, que mede cêrca de 34 de diametro. Existem tambem no dorso, perto da margem lateral, glandulas ou poros de forma elliptica, localizados: 2 no ultimo segmento do thorax; 5 no primeiro segmento abdominal; 4 no segundo segmento abdominal; 3 do terceiro segmento abdominal; e 1 no quarto segmento abdominal. Estes poros medem cêrca de 12 de comprimento e 5 de largura. Ha ainda glandulas multiloculares, de forma circular, no lado ventral perto da margem lateral, localizadas: 2 a 4 no primeiro segmento abdominal; 3 a 5 no segundo segmento abdominal; 2 ou 3 no terceiro segmento abdominal; e 1 no quarto segmento abdominal. Estas glandulas medem cêrca de 10 de diametro e compõem-se de um poro central ao redor do qual ha 11 poros menores e ao redor destes outros 11 poros maiores. A parte posterior do abdomen tem áreas chitinisadas e mostra numerosas estrias longitudinaes. A margem lateral do abdomen está guarnecida com pellos compridos, assim distribuidos: 2 no primeiro segmento; 3 no segundo; 3 no terceiro; 3 no



Conchaspis lata, n. sp. - Fig. 14 — Femea adulta, augmentada. Fig. 15 — Femea adulta, extremidade posterior do abdomen, muito augmentada.

quarto; 4 no quinto; e mais alguns no segmento terminal. Na base dos dois pares de espiraculos ha 2 a 4 pequenos poros circulares, sendo 3 o numero commum. Os olhos são regulares e estão situados perto da base das antennas. Ha adiante do rostro, que é grande, dois ou mais pares de pellos.

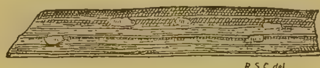
Hab. Rio de Janeiro, sobre a casca de uma arvore. O material foi remettido pelo Snr. Dr. C. MOREIRA, em 30 de Outubro de 1925. O typo foi encorporado na collecção deste Instituto sob o numero 104.

Esta especie differe de *Conchaspis socialis* GREEN, pela estructura das antennas e dos olhos, e pelo numero das glandulas multiloculares e poros ou glandulas ellipticas marginaes, além de differenças na disposição do escudo da femea.

Conchaspis lepagei HEMPEL, n. sp. (Figs. 16-20).

O escudo é chato, de côr branca, muito variavel em forma e tamanho. Ha escudos de forma irregular, outros de forma oval, outros de forma quasi rectangular ou semicircular. O escudo compõe-se apenas da secreção do insecto, não sendo misturado com pelliculas, e é levemente fixado na pagina inferior da folha da planta hospedeira; é forte e opaco, sendo porém a casca inferior imperceptivel. O escudo mede cêrca de 5 mm. de comprimento e de 2 mm. a 2,500 mm. de largura; e cada um abriga de um até cinco ou mais individuos de diversos tamanhos, ovos isolados e chrysallidas de machos, sendo, nestes ultimos casos, levemente repartido na parte inferior e interior. Os compartimentos das femeas são mais ou menos circulares, sendo os dos machos estreitos e compridos. Em baixo de um escudo foram encontrados tres machos, cada um em seu compartimento.

A femea é pequena, de corpo achatado, mais largo nos exemplares jovens e mais compridos nos exemplares maiores. Penso que não podemos falar de femeas adultas, pois parece que as larvas, depois de chegar a alcançar um certo tamanho, começam a reproducção pela postura de ovos isolados.



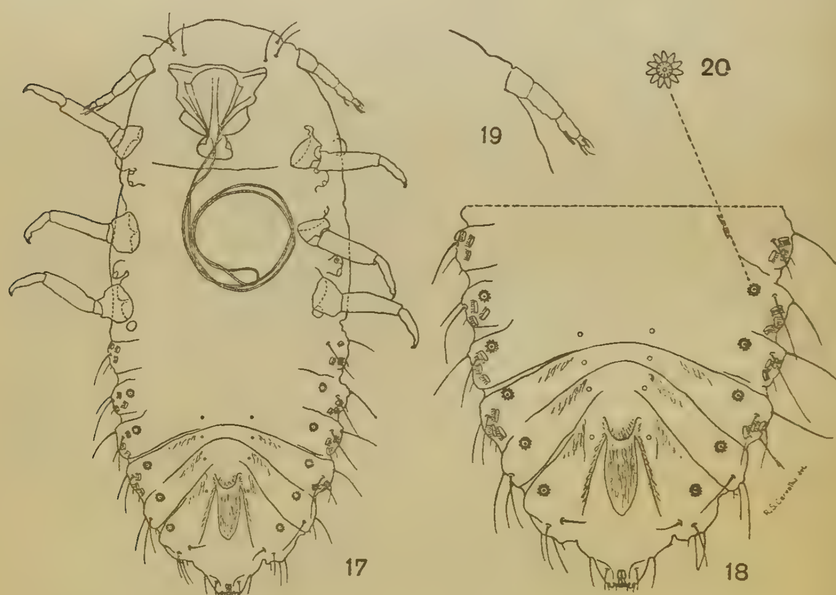
16

Fig. 16 — *Conchaspis lepagei*, n. sp. Escudo sobre a folha, tamanho natural.

Depois de fervido em uma solução de KOH, o corpo torna-se transparente e de forma cylindrica, diminuindo um pouco de diametro transversal perto da extremidade posterior. Os exemplares maiores medem 0,791 mm. de comprimento e 0,345 mm. de diametro transversal atravez da base do abdomen.

As antennas são curtas, medindo de 102 a 119 de comprimento. Compõem-se de quatro articulos, dos quaes o primeiro e segundo são largos, e o terceiro e quarto mais delgados. Os articulos medem: 1, 25-34; 2, 34-42; 3, 21-25; 4, 17. O segundo é o mais comprido e o ultimo o mais curto. O primeiro e o segundo articulo têm, cada um, um ou dois pellos curtos e finos.

O terceiro tem, perto da extremidade distal, um unico pello, grosso, obtuso, e relativamente curto. O quarto articulo tem dois pellos grossos e obtusos, dos quaes um é mais curto do que o outro; e mais dois pellos compridos e mais finos. As patas são curtas, e medem cêrca de 0,170 mm. de comprimento, sendo os tres pares iguaes em tamanho. Não ha movimento entre a tibia e o tarso. As diversas juntas medem: coxa, 34; femur, 76; tibia e tarso, 51; unha, 8. A unha tem o gancho caracteristico deste grupo. Os digitulos não foram observados. O rostro é forte e largo, occupando quasi o espaço entre as antennas. Os olhos são inconspicuos e situados perto da base das antennas. Ha, no lado ventral, perto da base de cada antenna, dois pellos compridos. No dorso, em cada lado, atraz do ultimo par de patas, ha uma invaginação,



Conchaspis lepagei, n. sp. - Fig. 17 — Femea adulta augmentada. Fig. 18 — Femea adulta, abdomen, maior augmento. Fig. 19 — Antenna, maior augmento. Fig. 20 — Glandula denticulada sub-marginal, muito augmentada.

que parece ser uma glandula, de forma circular e medindo cêrca de 14 de diametro. Os segmentos do abdomen são bem indicados, tendo os segmentos 1 a 4, na margem lateral de cada lado, tres invaginações que constituem poros ou glandulas quadrangulares ou ellipticos, medindo cêrca de 12 de comprimento e 6 de diametro transversal. Os segmentos 2 a 6 têm, na derme ventral e em cada lado, perto da margem lateral, uma glandula denticulada, multilocular, de forma circular, a qual compõe-se de um poro central, circular, com 11 poros que o rodeam e mais um circulo de outros 11 poros em redor desses, sendo estes maiores. Estas glandulas medem cêrca de 12 de diametro. Todos os segmentos abdominaes são providos de compridos pellos marginaes em cada

face lateral; os segmentos 1 a 3 têm 3 pellos em cada lado; o segmento 4 e 5 tem 4 pellos em cada lado; e o segmento 6 tem 5 pellos em cada lado; e o ultimo segmento tem 2 pellos em cada lado, dirigidos para traz, e mais um ou dois pares de pellos curtos e dois pares de placas simples e ponteagudas. Este ultimo segmento tem ainda um par de lobulos terminaes largos e com a margem lateral exterior grandemente entalhada. Neste segmento ha duas hastes chitinisadas que se extendem quasi até a abertura genital. Esta tem a forma semicircular, com a margem finamente ondulada, e dista da extremidade posterior do abdomen cêrca de 0,135 mm.

A larva pequena tem a côr e forma dos individuos maiores, sendo, porém, o corpo mais largo com relação ao seu comprimento. Os olhos são grandes e de côr pardo-escura. As antennas medem cêrca de 102 e compõem-se de seis articulos dos quaes o ultimo é o mais comprido, medindo 34. Ha larvas um pouco maiores com antennas de cinco articulos. Os digitulos das larvas são filiformes e um pouco curvos, sendo os do tarso muito mais compridos do que os da unha.

O ovo é de côr pardo-clara, de forma elliptica, com os polos arredondados, e mede cêrca de 0,304 mm. de diametro longitudinal e cêrca de 0,162 mm. de diametro transversal. A casca do ovo é lisa e transparente, sem nenhuma ornamentação.

O macho tem a côr pardo-clara; tem quatro olhos compostos, de côr pardo-escura. O thorax é muito grande e mais comprido do que o abdomen. O orgão genital é fino e mais comprido do que o abdomen. As antennas compõem-se de sete articulos.

Hab. Santos, sobre as folhas da palmeira brejauva (*Astrocaryum ayri* MART.), onde foi encontrado em 3 de Outubro de 1934, pelo Snr. H. S. LEPAGE, a quem a especie está dedicada, por ter elle mostrado muito interesse e desenvolvido muita actividade na collecta e estudo dos coccideos. O typo tem o n.º 105 na collecção deste Instituto.

Esta especie differe de qualquer outra já conhecida, pelos caracteres da casca e da femea adulta.

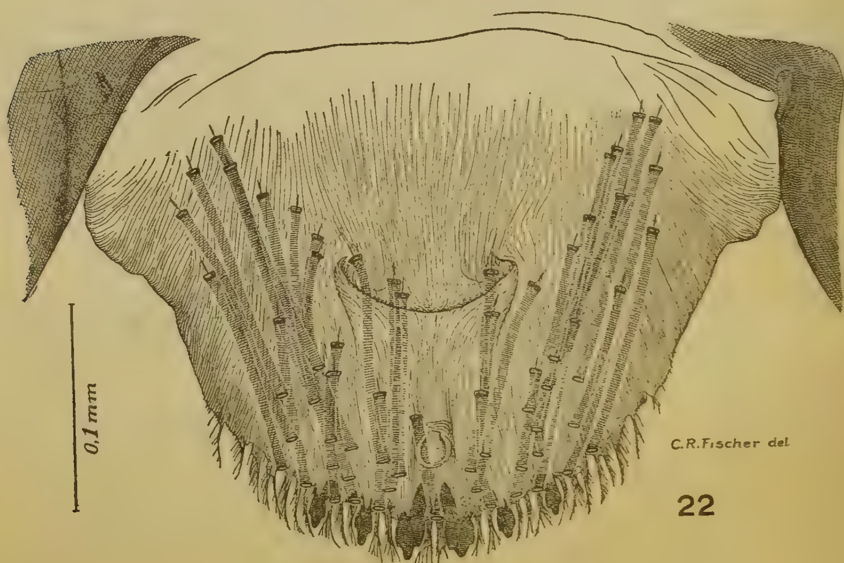
DIASPIDINAE

Aspidiotus eugeniae HEMPEL, n. sp. (Figs. 21-22).

O escudo da femea adulta é delgado, achatado, de forma aproximadamente circular, e mede cêrca de 2 mm. de diametro.

A femea adulta tem o corpo reniforme, chitinisada, que conserva a sua forma, mesmo depois de fervido em uma solução de KOH. O corpo mede cêrca de 1,200 mm. de largura e 1,050 mm. de comprimento. O pygidio tem tres pares de lobulos, todos de extremidade obtusa. Os lobulos do primeiro par são largos, com a extremidade entalhada em cada lado. Os lobulos do segundo par são mais estreitos do que os primeiros; e os do terceiro par mais estreitos do que os segundos. Todos esses lobulos têm a extremidade um pouco entalhada em cada lado. Existem 26 ou mais placas largas e chatas, as quaes têm a extremidade dividida e a margem lateral externa franjada. Estas placas são mais compridas do que os lobulos e estão dispostas da se-





Aspidiotus eugeniae, n. sp. - Fig. 21 — Femea adulta, muito augmentada. Fig. 22 — Femea adulta, pygidio, muito augmentada.

guinte maneira: duas entre o primeiro par de lobulos; duas em cada lado entre o primeiro e o segundo par de lobulos; tres em cada lado entre o segundo e o terceiro par de lobulos; e sete a oito em cada margem lateral adiante do terceiro par de lobulos. Glandulas perivaginaes não foram observadas. Estão presentes no pygidio cêrca de 33 glandulas cylindricas ou tubulares, collocadas: uma no meio e 16 em cada lado, dispostas em tres fileiras longitudinaes. Essas glandulas são compridas e algumas desembocam na margem posterior do pygidio e outras na área mais interna. As antennas são apenas visiveis, como tuberculos minusculos, tendo cada um, um pello terminal.

Hab. Santos, sobre as folhas de cabelluda, (*Eugenia* sp.), onde foi encontrado em 1.º de Julho de 1934, pelo Snr. H. S. Lepage. O typo tem o numero 718 na collecção deste Instituto.

A presente especie pode ser confundida com a *Aonidiella aurantii* (Mask.); da qual se distingue pelo tamanho menor, pelos lobulos, que são maiores, pelas placas, que são mais compridas, mais franjadas e em numero muito maior, e pelas glandulas tubulares, que são maiores e têm uma disposição diversa.

Diaspidistis squamosa Hempel, n. sp.

O escudo da femea adulta é irregular e até circular, em forma achatada, com uma pequena bossa central, mostrando a posição das pelliculas, e mede cêrca de 2 mm. de diametro. A côr é pardo escura, (côr de chocolate), com a parte central amarello-clara. A escama ventral é tenuissima e de côr branca.

A femea adulta tem o corpo cordiforme e só raras vezes um pouco entalhado na margem anterior. A derme está finamente estriada, mesmo no pygidio, onde as estrias são longitudinaes e bem visiveis. O pygidio termina em dois lobulos largos, de côr pardo-escura, mais largos do que compridos, os quaes têm a superficie longitudinalmente estriada e a margem posterior conica e serrilhada. Ha apparentemente, de cada lado, um segundo por de lobulos, cada um trifido, e ao lado deste um terceiro par, tambem trifido. Todas as divisões destes lobulos têm o mesmo tamanho. A margem lateral, além do terceiro par de lobulos, está denteada, formando, em cada lado, cêrca de 12 dentes obtusos semelhantes a lobulos. Ha tres pares de placas grandes, as quaes têm a extremidade pontuada ou, ás vezes, levemente franjada. As placas estão collocadas: um par (as maiores) entre os lobulos do primeiro par; o segundo entre o primeiro e o segundo par de lobulos; e o terceiro entre o segundo e o terceiro par de lobulos. Foram observados tres pares de pellos situados: um par na base dos lobulos do primeiro par, perto da margem interna; um par entre a segunda e a terceira divisão dos segundos lobulos; e o terceiro entre a segunda e a terceira divisão dos lobulos do terceiro par. A margem lateral do pygidio tem, em cada lado, 4 a 5 pequenos prolongamentos digitados da pelle, havendo tambem 2 a 3 desses prolongamentos na margem do segmento abdominal anterior a esse. Os tres segmentos abdominaes anteriores ao pygidio têm a margem lateral em cada lado prolongada em lobos, e, em cada lado, na área marginal e submarginal, que se estende do pygidio até a altura do segundo par de espiraculos, cêrca de 120 glandulas tubulares, menores do que as existentes no pygidio. No pygidio ha uma glandula tubular central e cêrca de 35 em cada área lateral, das quaes 7 a 8 desembocam na sua mar-

gem posterior ou lateral. Na margem do restante do corpo ha uma fileira simples de pequenas glandulas tubulares e de alguns pellos pequenos. Na base do primeiro par de espiraculos ha um grupo de 8 a 16 glandulas circulares, faltando ellas no segundo par de espiraculos. Ha quatro grupos de glandulas perivaginaes, tendo os antero-lateraes de 11 a 15 glandulas e os postero-lateraes de 16 a 23 glandulas, sendo 17 o numero mais commum.

O escudo do macho é alongado, branco, com a superficie dorsal aspera, e mede cêrca de 1,500 mm. de comprimento.

Hab. Araçatuba, Estado de São Paulo, sobre folhas de uma arvore silvestre, onde foi encontrado pelo autor em 23 de Junho de 1928. O typo está encorporado na collecção deste Instituto sob o numero 138.

Esta especie é muito parecida com a *Diaspidistis multilobis* Hempel; pode, porém, ser separado della pela côr do escudo feminino, pelos lobulos do primeiro par, que são muito mais largos, pelo numero menor de glandulas perivaginaes e pelo numero maior de glandulas tubulares nas margens lateraes dos segmentos abdominaes.

Diaspis occultata Hempel, n. sp.

O escudo da femea tem a forma mais ou menos circular, com a superficie dorsal um pouco aspera e de côr parda, mas com a face interior de côr branca. O dorso é um pouco convexo. Os escudos maiores medem cêrca de 1,500 mm. de diametro. Os individuos estão sempre localizados em baixo de uma camada espessa de feltro ou camurça formada pelo mycelio de um fungo. O escudo do macho não foi encontrado.

A femea adulta tem a côr branca, com o corpo cordiforme ou em forma de pião, medindo os exemplares maiores, depois de preparados, cêrca de 1,280 mm. de comprimento e 1,140 mm. de largura. O pygidio tem a extremidade posterior obtusa e possue dois pares de lobulos bem visiveis, e em certos exemplares parece ter mais um terceiro par, pois as margens lateraes do pygidio estão um pouco chitinisadas e serrilhadas. Os lobulos do primeiro par são largos e curtos, de forma triangular, com um pequeno entalhe em cada lado, e são situados distantes um do outro. O segundo par tem os lobulos pequenos e bifidos. Ha entre os lobulos do primeiro par uma placa larga, grande e chata, a qual tem a extremidade bifida, formando dois appendices grossos e conicos. Entre o primeiro e o segundo par de lobulos ha uma placa simples e na margem, além do segundo par, mais tres placas simples, espaçadas umas das outras. Todas as placas têm a forma conica e são muito mais compridas do que os lobulos. Nas margens lateraes do pygidio ha ainda duas pequenas saliencias em cada lado, cada qual com uma ou duas pequenas placas terminaes. No lado do dorsal do pygidio, perto da extremidade, ha ainda cinco pares de pellos escuros, tão compridos como os lobulos, e collocados: um par entre o primeiro par de lobulos; um entre estes e o segundo par de lobulos; e os restantes mais além, perto da margem e espaçados um do outro. Ha cêrca de cem glandulas dorsaes, tubulares, no pygidio; este tem a derme, na parte mediana, chitinisada e finamente enrugada no sentido longitudinal. Ha cinco grupos de glandulas perivaginaes, tendo o grupo mediano de 7 a 11 glandulas; os grupos

antero-lateraes de 16 a 22; e os postero-lateraes de 16 a 20. Glandulas periestigmaticas não foram observados. As antennas compõem-se de pequenos tuberculos, cada um com dois pellos terminaes, dos quaes um é curto e outro comprido.

Hab. São Paulo, sobre hastes da vassourinha do campo, onde foi encontrado em 1.º de Outubro de 1936, pelo Snr. J. P. da FONSECA. O typo foi encorporado na collecção deste Instituto sob o numero 719.

A presente especie tem alguma semelhança superficial com a *Diaspis visci* (SCHR.), porém é distincta pela forma dos lobulos, pelo numero de glandulas perivaginaes, pela disposição das glandulas dorsaes e pelo tamanho.

Furcaspis plana HEMPEL, n. sp. (Figs. 23-25).

O escudo da femea é irregular em contorno, geralmente asymetrico, ás vezes aproximadamente circular, chato, de côr de laranja, com uma pequena bossa perto do centro, de côr mais escura. Os exemplares velhos têm a côr mais escura, de chocolate. Os exemplares maiores medem até 3 mm. de comprimento.

A femea adulta, depois de fervida em uma solução de KOH, conserva a derme do corpo transparente e molle, sendo a do pygidio mais rigida, com a superficie marcada de estrias mais ou menos parallelas e excentricas, semelhantes ás de um dedo. O corpo é cordiforme, com a extremidade do pygidio truncada. Ha tres pares de lobulos simples e sub-iguaes, com a extremidade posterior arredondada. A margem lateral, em cada lado, além dos lobulos, está denteada com cêra de 12 dentes, os quaes têm a margem finamente serrilhada e a superficie finamente estriada. Ha 14 placas largas e simples, assim collocadas: 2 entre os lobulos do primeiro par; 2 em cada lado entre o primeiro e o segundo par de lobulos; tres em cada lado entre o segundo e o terceiro par de lobulos; e um em cada lado, entre o segundo e o terceiro dente da margem lateral. Estas placas têm o comprimento igual ao dos lobulos e, na extremidade posterior, uma superficie levemente chanfrada, sendo, portanto, mais transparentes na parte central do que nas margens lateraes. Os seis primeiros dentes das margens lateraes são mais largos do que os restantes. Na base de cada lobulo ha dois pequenos paraphyses. Foram observados 12 pellos escuros, sendo 4 situados na base dos lobulos e 4 no bordo marginal na base dos dentes lateraes de cada lado. Faltam as glandulas perivaginaes. Ha, perto da base dos lobulos, na área marginal e submarginal, cêrca de 20 pequenos poros glandulares. Ha ainda, em cada lado, na margem lateral do corpo, no espaço entre o pygidio e a parte anterior, cêrca de 10 a 12 pequenos prolongamentos cylindricos ou tubulares, os quaes têm a extremidade truncada. Os estigmas são pequenos. As antennas são representadas por dois pequenos tuberculos, cada um com 4 pellos terminaes.

O escudo do macho é semelhante ao da femea, porém mais regular quanto á forma, e menor. A forma é aproximadamente circular, com uma bossa mais escura perto da margem anterior, sendo a margem posterior tambem mais escura. O escudo mede cêrca de 1 mm. de comprimento e 0,970 mm. de diametro transversal.

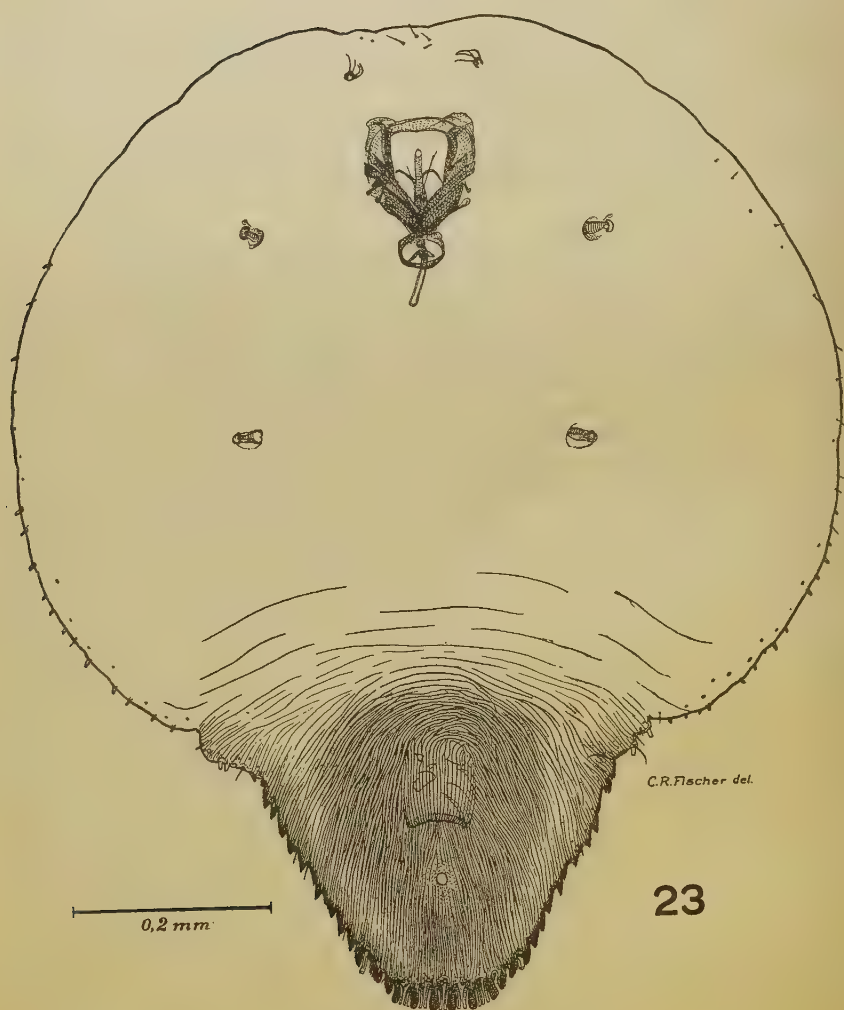
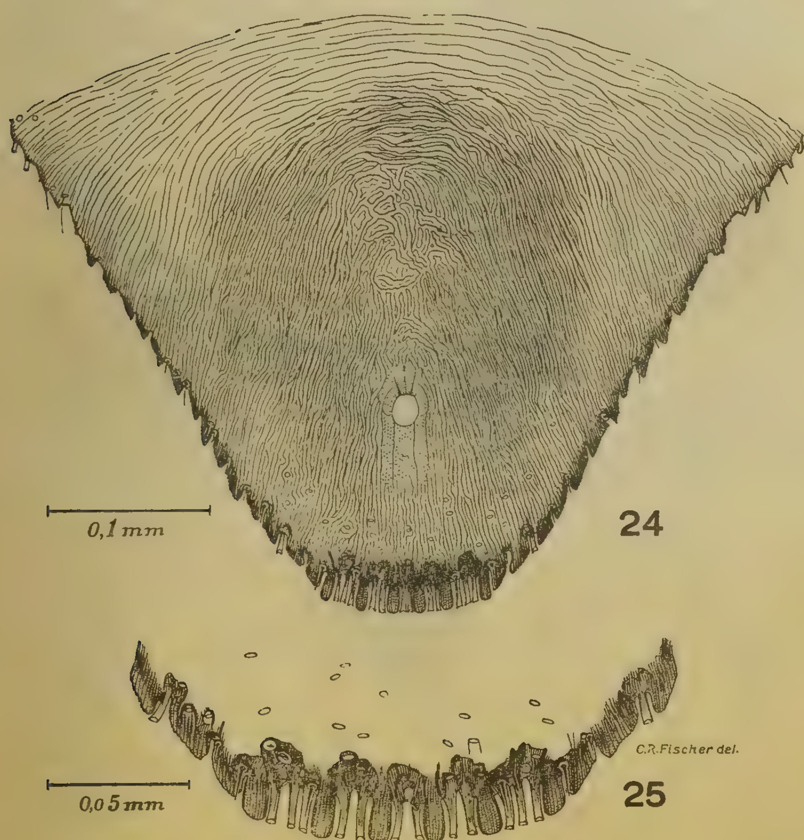


Fig. 23 — *Furcaspis plana,* n. sp. - Femea augmentada.



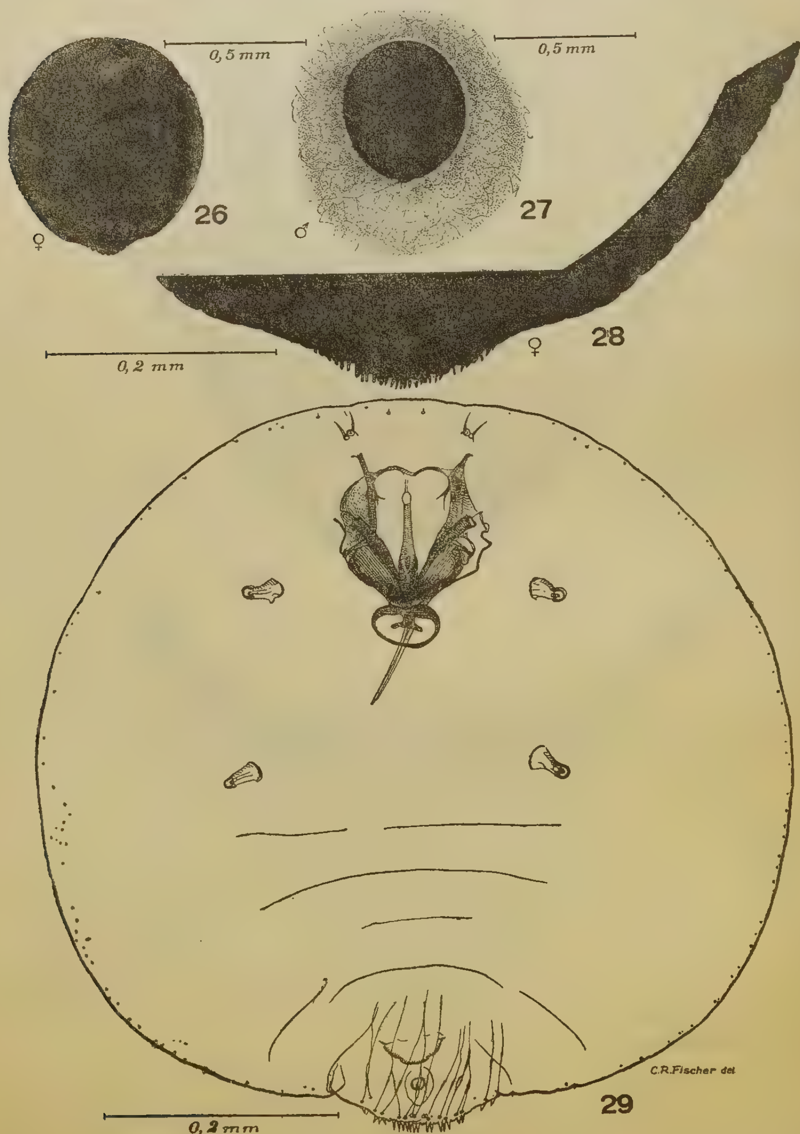
Furcaspis plana, n. sp. - Fig. 24 — Femea adulta, pygidio, muito augmentado. Fig. 25 — Femea adulta, margem posterior do pygidio, maior augmento.

Hab. Santos, sobre folhas de grumixama, onde foi encontrado em 18 de Julho de 1934, pelo Snr. H. S. LEPAGE, e em 28 de Julho de 1932, pelo Snr. J. DESLANDES. O typo foi encorporado na collecção deste Instituto sob o numero 720.

A presente especie tem uma semelhança superficial com a *Furcaspis rufa* LINDINGER, porém pode ser facilmente separada pelo tamanho maior e forma differente do escudo, pela presença de 14 placas, e pelo denteado das margens lateraes do pygidio além do terceiro par de lobulos.

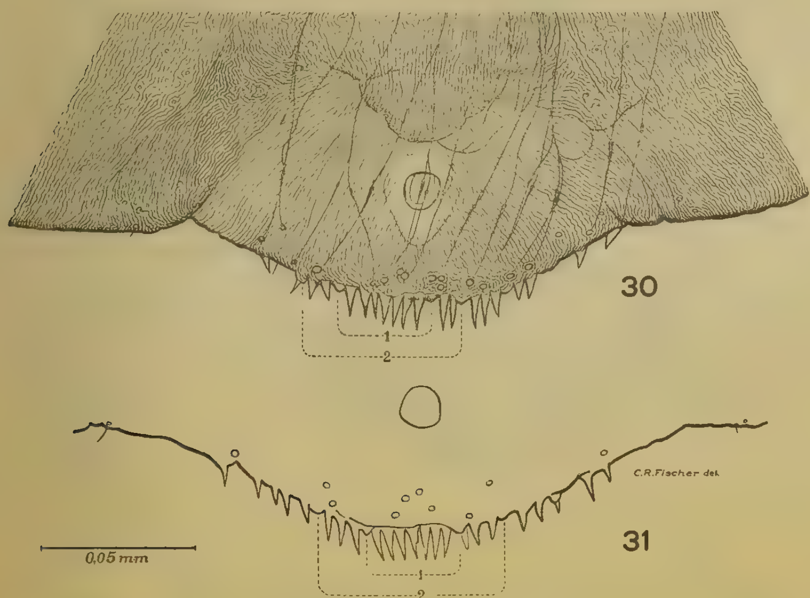
Gymnaspis sculpta HEMPEL, n. sp. (Figs. 26-33).

O escudo da femea, composto inteiramente da casca da forma preadulta, é preto, ás vezes coberto com uma camada delgada de secreção de côr creme



Gymnaspis sculpta, n. sp. - Fig. 26 — Escudo da femea adulta, augmentado. Fig. 27 — Escudo do macho, augmentado. Fig. 28 — Parte da margem do escudo da femea adulta, maior augmento. Fig. 29 — Femea adulta, muito augmentada.

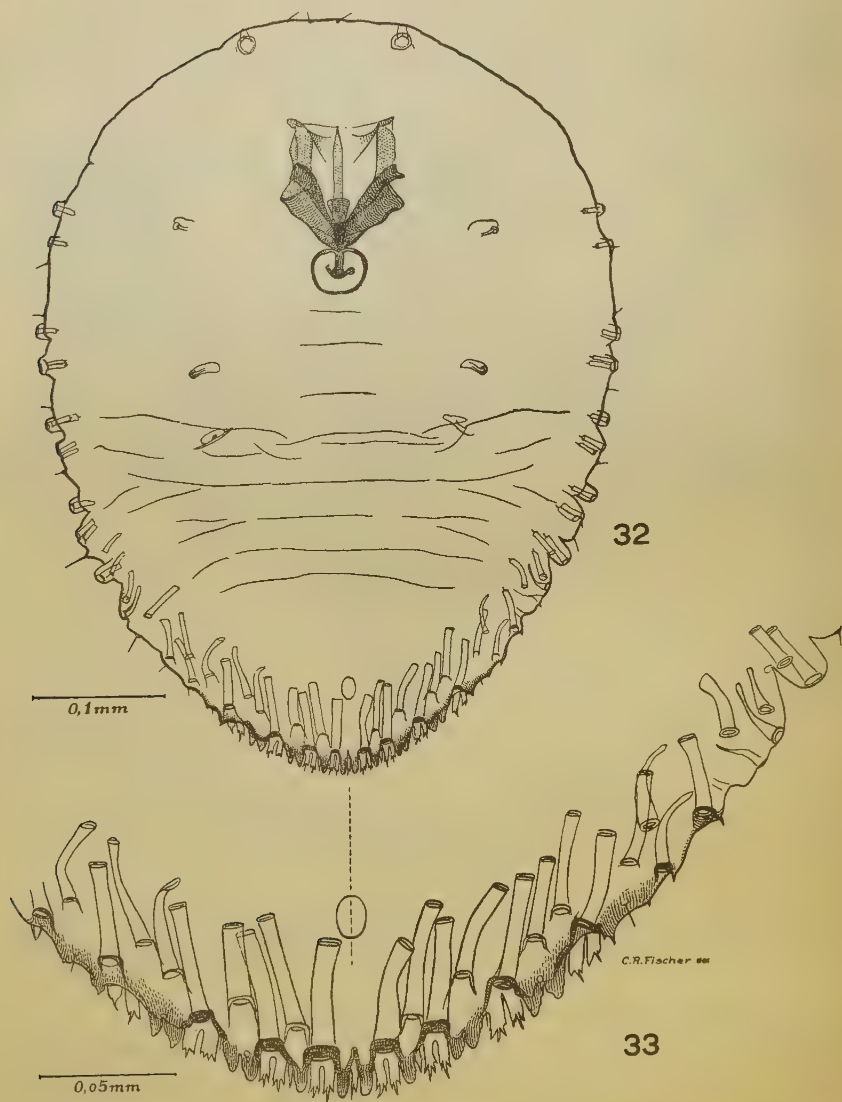
na área submarginal. A forma é chata, sendo o contorno subcircular, com a margem anterior um pouco achatada, com a margem finamente entalhada e geralmente com a parte central um pouco convexa, devido á presença da exuvia larval. O escudo mede de 0,791 mm. a 0,851 mm. de diametro longitudinal e de 0,710 mm. a 0,730 mm. de diametro transversal. O espaço entre os entalhos na margem do escudo da femea varia de cêrca de 17 a 34, sendo presentes 80 ou mais destes pequenos entalhes, os quaes faltam perto da extremidade posterior do escudo, onde estão visiveis as placas e os lobulos, de côr preta, tendo os lobulos as extremidades transparentes.



Gymnaspis sculpta, n. sp. - Fig. 30 — Femea adulta, pygidio, muito augmentado.
Fig. 31 — Femea adulta, variação do pygidio, muito augmentado.

O escudo do macho tem igualmente a forma subcircular, com a exuvia preta larval no centro e uma larga zona marginal composta de secreção e de côr pardo-clara ou cinzenta. Este escudo é um pouco maior do que o da femea, medindo cêrca de 1,014 mm. de diametro longitudinal e 0,953 mm. de diametro transversal.

A femea preadulta tem o corpo de forma oval e mede de 0,568 mm. a 0,649 mm. de comprimento e de 0,426 mm. a 0,466 mm. de largura. No pygidio ha quatro pares de lobulos, sendo geralmente duplicados o terceiro e o quarto par; e ha, na margem lateral de cada lado, além do quarto par, uma saliencia semelhante a um lobulo simples. Todos os lobulos são simples e de forma triangular. Existem 19 placas ao todo, havendo, apparentemente, uma entre os lobulos do primeiro par; entre estes e os segundos ha duas placas;



Gymnaspis sculpta, n. sp. - Fig. 32 — Femea, forma preadulta, muito augmentada. Fig. 33 — Femea, forma preadulta, margem do pygidio, maior augmento.

entre estes e os terceiros lobulos ha tres placas; entre estes e os quartos ha duas placas, e entre estes e a saliencia marginal ha mais duas placas. Todas essas placas, menos a primeira entre o segundo e o terceiro par de lobulos, são largos, tricuspides, tão compridas como os lobulos, com a cuspide central muito

fina e comprida, sobrepujando os lobulos. A primeira placa entre o segundo e o terceiro lobulo é estreita, simples e pontuda. As placas tricuspides centraes são as mais estreitas, ficando as lateraes mais largas, successivamente. Desembocando na extremidade posterior do pygidio ha 12 grandes glandulas tubulares marginaes, e ainda 14 glandulas submarginaes, sendo estas as maiores, medindo cêrca de 45 de comprimento e 8 de diametro transversal. Na margem lateral do abdomen e do thorax ha ainda pequenos tuberculos ou saliencias, até 9 em cada lado, e em cada um desembocam uma ou duas glandulas tubulares.

A femea adulta é approximadamente de forma circular, com 0,690 mm. de diametro. O pygidio é pouco saliente. Faltam as glandulas perivaginaes. Na margem posterior do pygidio ha 20 a 24 prolongamentos digitados e um ou dois pares de lobulos curtos e largamente triangulares. Ha ainda 20 ou mais glandulas filiformes, muito compridas, com um alargamento no meio, as quaes desembocam na margem posterior, na base dos prolongamentos digitados ou perto delles. A derme, na parte posterior do corpo, é toda fina e densamente enrugada.

Hab. Lageado, Capão Bonito, Estado de Matto Grosso, sobre folhas de uma planta silvestre, (*Aquifoliaceae*), onde foi encontrado em 4 de Setembro de 1936, pelo Snr. Dr. W. Archer e Snr. A. Gehrt. O typo foi encorporado na collecção deste Instituto sob o numero 721.

A presente especie differe de *Gymnaspis aechmeae* Newstead e *Gymnaspis clusiae* Lindinger pela forma dos lobulos da segunda phase, numero de placas e glandulas marginaes e pela presença de lobulos na femea adulta; e de *Gymnaspis aberemoae* Lindinger pela forma e tamanho da exuvia, numero de lobulos, placas e glandulas da segunda phase, e pela ausencia de glandulas perivaginaes na femea adulta.

NOTA FAUNISTICA SUPPLEMENTAR

Pseudococcus cryptus Hempel.

Esta especie foi descripta em 1918 de material colligido em Pennapolis sobre raizes do cafeeiro. Posteriormente foi recebido de Deodoro, Caçapava e outras localidades sobre raizes de *Citrus*. Já na descripção original foi notado a variabilidade existente nas antennas, pois quasi todas as femeas adultas examinadas tinham as antennas com sete articulos; porém em certas outras o quarto articulo era dividido, dando oito articulos á antenna.

Recentemente foi recebido material dessa especie proveniente de M'Boy- Itapecerica, deste Estado, tambem colhido sobre raizes de *Citrus*, composto de exemplares de femeas adultas, todas ellas mostrando antennas com oito articulos, e patas mais compridas da que nos exemplares typicos, conservando, porém, os demais caracteres distinctivos, especificos: 34 cerarios, cada um com 2 espinhos grossos e agu-

dos e diversos pellos accessorios, dois dos quaes, pelo menos, são muito compridos; a presença de grandes glandulas circulares na derme da face ventral, especialmente numerosas nos 4 ultimos segmentos abdominaes e dispostas em carreiras transversaes; a presença de poucas glandulas com uma base circular, concava, em forma de pires, com uma haste central, situadas na derme dorsal perto da peripheria.

As antennas têm as seguintes dimensões: 1, 51; 2, 59; 3, 59; 4, 38; 5, 42; 6, 34; 7, 42; 8, 102. As juntas do primeiro par de patas medem: coxa, 85; femur e trochanter, 288; tibia, 195; tarso, 93; unha, 30. Os exemplares maiores medem 2,500 mm. de comprimento e 1,500 mm. de largura.

Pseudococcus radicis Green.

Descripta em 1933 de material colligido na Guyana Hollandesa sobre raizes de *Cyperacea,* da qual passa a infestar raizes do cafeeiro, conforme relata o Snr. G. Bunzli, foi esta especie encontrada infestando raizes de cafeeiro proveniente da Cantareira, arrabalde da Capital de S. Paulo, em Abril do corrente anno. Ella mede cêrca de 2 mm. de comprimento, tem as antennas com oito articulos, dos quaes o quarto é muito pequeno e o ultimo o mais comprido.

Asterolecanium viridulum Ckll.

Esta especie foi descripta em 1902 de material proveniente de Tucuman, Republica Argentina e foi novamente encontrada em 1910; e em Janeiro do presente anno, o Dr. H. S. Fawcett colligiu exemplares della em Santos, sobre uma planta silvestre «assa-peixe», perto da praia, sendo esta a primeira vez que foi assignalada no Brasil.

ABSTRACT

In the present paper twenty new species and one new genus of Coccidae are described. All of the species are from Brazil. Seventeen species were collected in the State of S. Paulo, two in Rio de Janeiro, and one in Matto Grosso.

In the supplement are registered Pseudococcus radicis Green *and Asterolecanium viridulum* Ckll., *not hitherto recorded from Brazil; and variations observed in Pseudococcus cryptus* Hempel.

———o———

Vol. 8 — Art. 2 Dezembro de 1937

SOBRE A PRETENDIDA RELAÇÃO ENTRE A "ARTERIOSCLEROSE HYPERPLASTICA DAS COBAYAS" E A HYPO-VITAMINOSE C.

POR

J. R. Meyer, A. Pamplona e P. Bueno

Trabalho do Instituto Biologico de S. Paulo

Com as estampas 1-4

I — *Apparecimento da lesão em cobayas alimentadas normalmente.*

Em trabalho publicado recentemente, M. L. MENTEN e C. G. KING, (3 e 4) descrevem, em cobayas submettidas a um regimen com deficiencia de vitamina C e injectadas com doses sub-lethaes de toxina diphterica, uma arteriosclerose de caracter hyperplastico diffuso, interessando os pulmões, o figado, o baço e os rins.

Como esse achado tem os mesmos caracteres que a arteriosclerose hyperplastica descripta por KLOTZ (5), BAYLEY (1) e DUFF (2), na discussão do trabalho, os autores admittem que a lesão por elles obtida nas cobayas seja egual á arteriosclerose experimental do coelho e que a vitamina C desempenha um papel de relevo na pathogenia dessa lesão vascular.

Tendo tido opportunidade de encontrar um quadro vascular identico em cobayas alimentadas normalmente com uma diéta composta de capim verde e portanto, segundo o que se admitte, incapaz de determinar o apparecimento da avitaminose C, decidimos fazer uma revisão de todo o material de cobayas archivado na secção de Anatomia Pathologica do Instituto, para ver a frequencia dessa alteração e para verificar se o seu apparecimento tambem occorria em cobayas alimentadas com quantidade abundante de alimentos verdes.

O material de estudo accumulado desde 1928 até 1936 consta de 100 pulmões, 93 figados, 83 baços e 77 rins. Em sua maior parte esses orgãos pertenceram a animaes usados em experiencias diversas (inoculações de germens pathogenicos, dosagens de aggressina contra manqueira, inoculações para pesquisa de tuberculose e manutenção do virus do typho exanthematico de S. Paulo). Numa pequena proporção esse material comprehende cobayas perfeitamente normaes, sacrificadas como testemunhas, para fornecimento de orgãos destinados a comparações histologicas. Sempre, porém, usadas ou não em experiencias, as cobayas cujos orgãos foram aproveitados para este estudo

tiveram uma ração que consistia na administração diaria de torta de fubá, mandioca crúa e capim verde *ad libitum*.

Das cobayas que haviam sido utilizadas em experiencias, umas haviam morrido espontaneamente, e outras foram sacrificadas. Nas cobayas do primeiro grupo o periodo decorrente entre o dia da inoculação e o dia da morte variou entre 24 horas e 32 dias, sendo porém na maioria dos casos menor de 10 dias como se vê na tabella seguinte:

TABELLA N.º 1

Demonstrando a qualidade do material examinado, todo elle pertencente a cobayas alimentadas normalmente

	N.º total examinado	Pertencentes a cobayas inoculadas com material pathologico	Pertencentes a cobayas sacrificadas em estado normal	Pertencentes a cobayas inoculadas, tendo incubação menor que 10 dias	Pertencentes a cobayas inoculadas, tendo uma incubação maior que 10 dias
Pulmões	100	95	5	70	25
Figados	93	85	8	51	34
Baços	83	78	5	56	22
Rins	77	68	9	64	4

II — *Methodo e criterio adoptado para a pesquiza das lesões*

Antes de considerar a frequencia das alterações vasculares procuradas, convem dizer que a lesão considerada positiva é a mesma que apparece descripta no trabalho de L. Menten e C. G. King, a qual consiste em «grande espessamento das paredes arteriaes com diminuição da cavidade vascular». Como nos casos dos autores citados, as nossas observações positivas se mostraram com maior frequencia nas arteriolas médias. O espessamento dessas paredes coincide não raro com um certo entumecimento da lamina elastica interna, a qual, por perder as affinidades corantes, porisso mesmo se torna mais evidente. As cellulas contracteis da camada média tambem mostram como que signaes de alterações regressivas, consistindo em pyknose nuclear, aspecto granuloso ou hyalinização do protoplasma e desapparecimento dos limites cellulares. Com as colorações proprias vê-se que o processo tambem interessa ás fibras elasticas da camada média, as quaes, via de regra, se mostram mal coradas, desintegradas ou mesmo completamente desapparecidas. As lesões consideradas positivas, tanto no pulmão como nos outros orgãos (figado, baço e rim) são apenas as que mostram muito nitidamente os factos descriptos. Os casos de persistencia de uma cavidade vascular com diametro superior ao da espessura das paredes do vaso, ou todas as arterias em que o espessamento não era uniforme, mas descontinuo, não foram tomados em consideração.

Com esse criterio as lesões foram primeiramente procuradas em córtes corados pela hematoxylina e eosina e depois num certo numero de casos confirmados e estudados mediante a coloração de Unna Taenzer para fibras elasticas.

III — *Frequencia da «arteriosclerose hyperplastica»*

Se bem que o numero de cobayas normaes (não inoculadas) seja pequeno, podemos estabelecer uma comparação dizendo que os phenomenos vasculares descriptos apparecem tanto em cobayas inoculadas com material pathogenico como em cobayas normaes, sendo mais frequentes nos pulmões do que no figado, mais no figado do que no rim, e mais no rim do que no baço.

A tabella n.º 2 resume em seus detalhes o apparecimento da alteração nos orgãos referidos:

TABELLA N.º 2

Frequencia das alterações vasculares nos orgãos das cobayas normaes e das inoculadas com material pathogenico

	Orgãos pertencentes a cobayas normaes alimentadas normalmente		Orgãos pertencentes a cobayas inoculadas com material pathogenico e tambem alimentadas normalmente	
	Porcentagem de casos positivos	Porcentagem de casos negativos	Porcentagem de casos positivos	Porcentagem de casos negativos
Pulmões . .	80%	20%	88%	12%
Figado. . .	50 »	50 »	38 »	62 »
Rim. . . .	22 »	78 »	1 »	99 »
Baço . . .	0 »	100 »	9 »	91 »

A diversidade de resultados entre os achados em cobayas normaes e os achados em cobayas inoculadas explica-se em grande parte pelo facto de ser relativamente pequeno, como vemos no primeiro quadro, o numero de cobayas normaes sacrificadas para este estudo. Não obstante essa irregularidade, podemos inferir do exposto que as alterações vasculares apparecem tanto em cobayas normaes como em cobayas inoculadas, mesmo quando na alimentação exista uma quantidade normal de vitamina C. Mas podia-se pensar que a positividade nos casos de cobayas inoculadas fosse devida ao facto das cobayas

inoculadas se alimentarem deficientemente e, porisso, cahirem em estado de hypo-vitaminose. Ora, se essa fosse a causa das lesões, é claro que quanto maior o periodo de incubação da doença inoculada, tanto mais frequente deveria ser a incidencia das alterações, pois é claro que durante uma molestia mais prolongada ha sempre mais tempo para o animal se alimentar mal e entrar em hypo-vitaminose. Esta explicação, entretanto, não procede. Pelo que se vê na tabella n.º 3, a lesão appareceu tanto em casos de incubação menor que cinco dias como nas doenças de incubação maior que dez dias. Sabido que as lesões vasculares, segundo MENTEN e KING, apparecem no prazo de 10 dias, seria de esperar que pelo menos no primeiro grupo (periodo de incubação menor que 5 dias) a lesão não se manifestasse. Aliás, como já foi registrado para cobayas normaes, as lesões vasculares não deixaram de apparecer nas inoculações causadoras de doenças rapidas, não se podendo applicar ao facto a hypothese aventada.

TABELLA N.º 3

Frequencia de lesões vasculares em cobayas inoculadas, segundo o periodo de incubação da doença que provocou a morte.

Orgãos	Cobayas mortas entre 1 e 5 dias após a inoculação		Cobayas mortas entre 6 e 10 dias após a inoculação		Cobayas mortas com mais de 10 dias após inoculação	
	% de casos positivos	% de casos negativos	% de casos positivos	% de casos negativos	% de casos positivos	% de casos negativos
Pulmões	91	9	100	0	73	27
Figado	48	42	38	62	47	43
Baço	9	91	0	100	20	80
Rim	2	98	0	100	7	93

Os numeros do quadro citado mostram que a porcentagem das lesões arteriolares, nos pulmões e no figado, diminuem ligeiramente nas cobayas inoculadas que morrem após uma incubação maior. Mostram tambem que no baço e no rim as lesões arteriolares soffrem um ligeiro augmento quando a incubação é maior.

RESUMO

Resumindo, pode-se dizer que as «lesões arteriolares do typo hyperplastico» são phenomenos frequentes em diversos orgãos de cobayas alimentadas com capim e isentas da hypo-vitaminose C. O apparecimento da pretendida «arteriosclerose hyperplastica» das cobayas é mais frequente nos pulmões, menos frequente no figado e relativamente raro no baço e no rim.

As «lesões» em questão apparecem tanto em cobayas inoculadas com materiaes pathologicos, como em cobayas normaes, não havendo naquellas cobayas inoculadas com material pathologico relação entre o estado morbido provocado e a frequencia da chamada «arteriosclerose hyperplastica».

ABSTRACT

This paper considers the appearance of vascular thickenings occurring in small arteries of lungs, liver, spleen and kidneys of normal guinea pigs. The lesions are of the same type of those described by MENTEN *and* KING *in guinea pigs fed with an insufficient amount of vitamin C. The material considered in this research includes 100 lungs, 93 livers, 83 spleens and 77 kidneys, belonging to guinea pigs fed with a normal diet consisting of greens, corn meal mush and manioc. Most of these animals had been previously used in bacteriological experiments or as depositories of viruses. Others were normal and had not received any pathological material previous to death. In both groups the vascular supposed «lesions» appeared in a similar way being the most frequent in the lungs (respectively 88 and 80 percent of the lungs examined), less frequent in the liver (respectively 38 and 50 percent) and almost excepcional in the spleen.*

The percentage of cases showing this phenomenon was studied according to the incubation period, considered from the day of inoculation to the day of the spontaneous death, in those guinea pigs which received pathological material. However no significant differences were found whether the incubation period was shorter than five days or longer than 10 days. From these facts it is concluded that arterial thickening in the lungs, liver or kidneys of guinea-pigs, is a rather common finding in normally fed guinea-pigs.

BIBLIOGRAPHIA

1 — BAYLEY, C. H. — 1917 — The production of arteriosclerosis and glomerulonephritis in the rabbit, etc. *J. Exp. Med.*, **25**, 109-118.

2 — DUFF, G. L. — 1932 — Medial degeneration of aorta of rabbit, produced by diphteria toxin. *Arch. Path.*, **13**, 543-549.

3 e 4 — KING, C. G. e MENTEN, M. L. — 1935 — The influence of vitamin C level upon resistance to diphteria toxin. I e II. *Jour. of Nutrition*, **10**, 129-155.

5 — KLOTZ, O. — 1906 — Experimental production of arteriosclerosis. *Brit. Med. J.*, **2**, 1767-1772.

———o———

EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

Estampa 1

Arteriolas pulmonares de cobayas alimentadas normalmente, mostrando phenomenos simulando arteriosclerose hyperplastica.

Fig. A — Cobaya 206 — pequeno augmento. Arteriola com paredes espessadas.
Fig. B — Cobaya 236 — pequeno augmento. Arteriolas com paredes espessadas.
Fig. C — Cobaya 46 — pequeno augmento. Arteriola com paredes espessadas.
Fig. D — Cobaya 245 — Arteriola com paredes espessadas.
Fig. E — Cobaya 206 — Arteriola com paredes espessadas.

Estampa 2

Fig. F — Cobaya 46 — Arteriola com paredes espessadas.
Fig. G — Cobaya 243 — Arteriola com paredes espessadas.
Figs. H e I — Cortes transversaes de arteriolas hepaticas com paredes espessadas devido a hypertrophia e provavel retracção das cellulas da camada média. Na figura H o processo coincide com phenomenos degenerativos interessando o nucleo e o protoplasma das cellulas.

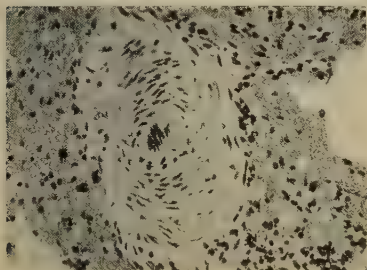
Estampa 3

Figs. J a M — Arteriolas hepaticas. Alterações identicas ás anteriores. Na figura K o processo coincide com phenomenos degenerativos interessando o nucleo e o protoplasma das cellulas.

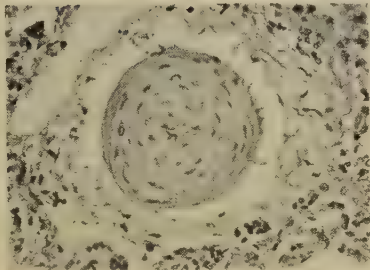
Estampa 4

Fig. N — Arteriola hepatica de cobaya, com phenomenos eguaes as da estampas precedentes.
Fig. O — Arteriola esplenica com paredes espessadas. As cellulas da média apresentam-se como que degeneradas sendo muito nitida uma vacuolisação na porção correspondente á lamina elastica interna.
Fig. P — Arteriola esplenica com paredes espessadas devido a uma apparente hyperplasia cellular que se manifesta pelo apparecimento de um numero relativamente grande de nucleos em plena camada média.

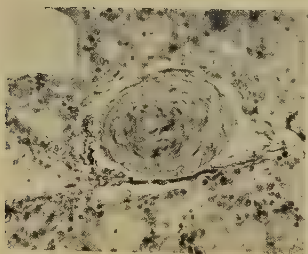
———o———



A



B



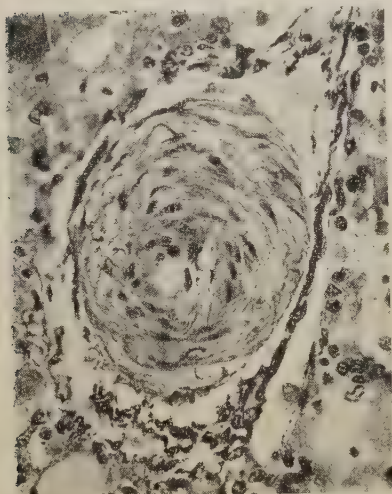
C



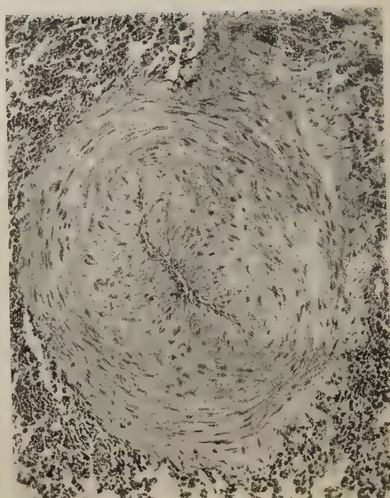
D



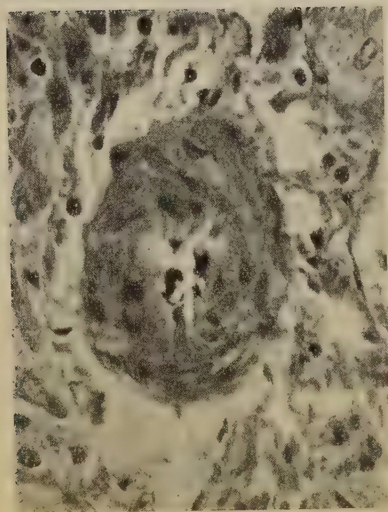
E



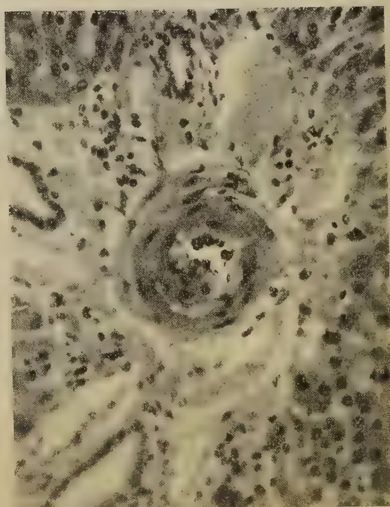
F



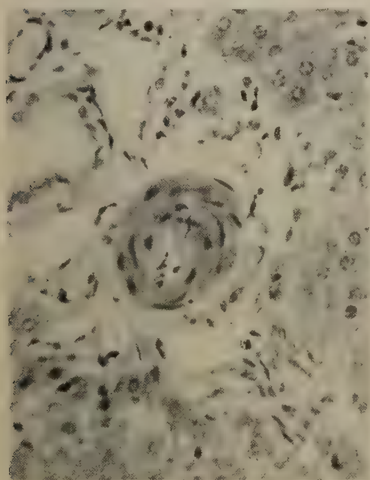
G



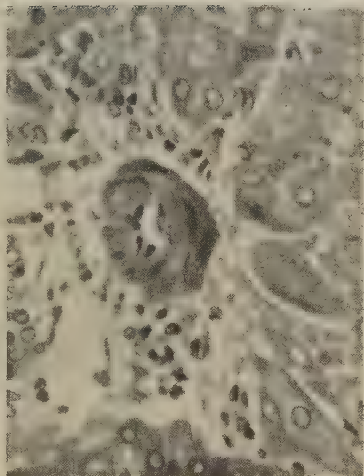
H



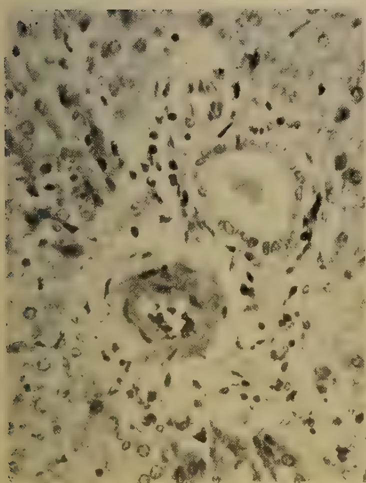
I



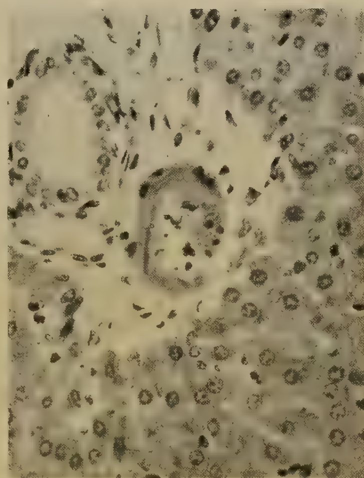
J



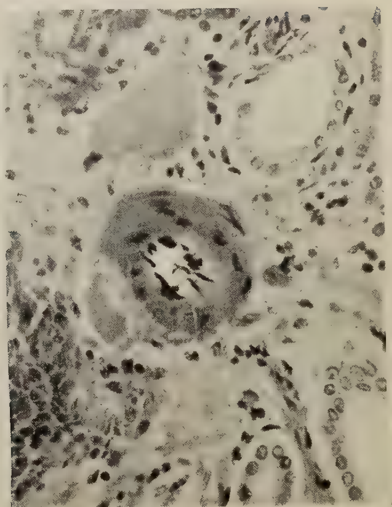
K



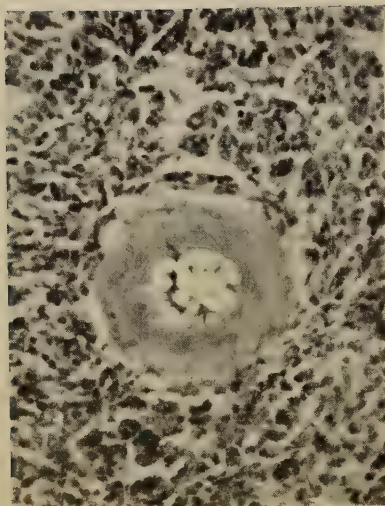
L



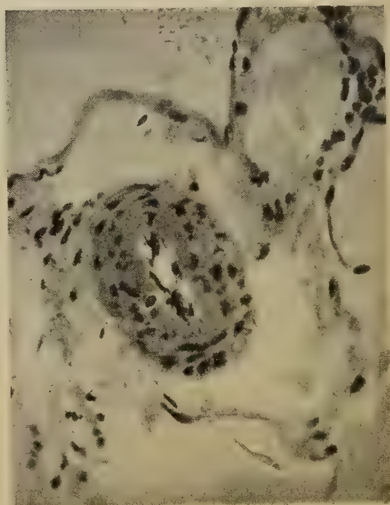
M



N



O



P

Vol. 8 — Art. 3 Dezembro de 1937

ARTEFACTOS DE FIXAÇÃO SIMULANDO "ARTERIOSCLEROSE HYPERPLASTICA" EM COBAYAS

POR

J. R. Meyer

Trabalho do Instituto Biologico de S. Paulo

Com as estampas 5-6

No estudo da arteriosclerose dos animaes de laboratorio, KLOTZ e outros autores descreveram, para o coelho, após manutenção repetida desses animaes em posição invertida, e tambem mediante administração repetida de pequenas doses de adrenalina, um augmento das paredes das arteriolas, conhecido hoje com o nome de «arteriosclerose hyperplastica».

Essa alteração foi descripta por MENTEN e KING em cobayas submettidas a regimen de avitaminose C e tratadas contemporaneamente com toxinas bacterianas. Baseados nesse achado, os referidos autores concluiram que um dos factores que desempenham papel importante no apparecimento da arteriosclerose é a coincidencia de intoxicações de origem bacteriana e a carencia da vitamina em questão.

Contestando as relações existentes entre a avitaminose C e a chamada «arteriosclerose hyperplastica» da cobaya, baseados em pesquisas de abundante material colleccionado em nosso laboratorio no Instituto Biologico de S. Paulo, tivemos a opportunidade de verificar que o quadro arteriolar das cobayas, interpretado por MENTEN e KING como dependente do regimen experimental a que submettiam seus animaes, apparecia com grande frequencia em cobayas alimentadas normalmente, e que o espessamento das arteriolas podia ser devido a uma retracção das paredes musculares desses vasos, processada depois da morte dos animaes.

Como esta ultima explicação era passivel de uma prova experimental, o assumpto foi objecto de uma série de verificações que, de um modo geral, consistiram no estudo histologico de material fixado antes que a musculatura das pequenas arterias tivesse tempo para soffrer a supposta retracção.

Methodo — Para essa pesquisa escolhemos de preferencia a cobaya, por ser esse o animal em que o quadro referido é encontrado com maior frequencia. Para impedir que as arteriolas se retrahissem após a morte, como suppunhamos que occorresse, submettiamos as cobayas a anesthesia pelo ether e logo que a narcose era completa, sacrificamos os animaes com uma injecção de formol. Algum tempo

depois da morte os orgãos eram retirados e recolhidos em uma solução de formol, onde permaneciam durante cerca de 24 horas, para depois serem cortados, deshydratados e incluidos em parafina, para seu estudo microscopico.

A pesquisa comprehendeu dois grupos de experiencias.

I — *Cobayas sacrificadas com injecção intracardiaca de formalina.*

Duas cobayas, pesando respectivamente 280 e 310 grammas, foram profundamente anesthesiadas. Por puncção cardiaca foram retirados de cada uma 2-3 cc. de sangue e logo após injectada uma quantidade correspondente de formol a 20 %.

A necropsia, feita duas horas depois da morte, revelou fixação adiantada do parenchyma pulmonar, que era de côr pallida e conservava a forma de um orgão distendido enchendo completamente a cavidade thoraxica. Não havia o aspecto proprio do orgão em collapso, sempre encontrado quando se faz a autopsia de cobayas em condições ordinarias. O exame miscroscopico dos orgãos chama a attenção pela ausencia completa de arteriolas de paredes espessas. Sobretudo nos pulmões as arteriolas se apresentam com as cavidades amplas (Estampa 5, figs. A e B) e com as paredes de espessura normal. A lamina interna era isenta das sinuosidades que lhe são communs e a camada media era completamente destituida dos vacuolos que se encontram nas arteriolas correspondentes fixadas algum tempo depois da morte. Interessante tambem, do ponto de vista histopathologico, é o facto dos alveolos pulmonares tambem se acharem perfeitamente distendidos, e isento o parenchyma de areas densificadas. No figado, no baço e nos rins as arteriolas têm o mesmo aspecto das arteriolas dos pulmões.

O facto das arteriolas da experiencia anterior se acharem com as cavidades vasias fez surgir a hypothese de que o não espessamento das paredes alveolares fosse devido a uma distensão dos vasos, consequente do liquido injectado no coração. Porisso a fixação foi feita de maneira um pouco differente, por meio de injecção de formol na trachéa, como se vê a seguir.

II — *Cobayas sacrificadas com injecções intratracheaes de formol.*

Como nas experiencias anteriores, duas cobayas foram profundamente anesthesiadas pelo ether. Obtida a anesthesia, foram injectados, em cada uma, cerca de 4 cc. de formol a 20 %, sendo as cobayas mantidas com a cabeça voltada para cima, para se evitar, tanto quanto possivel, que o liquido escapasse pelo pharynge e fossas nasaes.

A autopsia foi feita duas horas mais tarde. Os pulmões estavam perfeitamente armados e enchiam toda a cavidade thoraxica. A fixação foi completada com formol a 10 % e o exame histologico, feito em córtes de parafina pelos processos communs, mostrou arteriolas de paredes perfeitamente normaes, pequena quantidade de sangue no seu interior, laminas elasticas internas lisas

e ausencia completa de vacuolisação das fibras que formam a media (Estampa 6, fig. C).

Como nas experiencias anteriores a pesquiza minuciosa, feita em numerosos córtes do pulmão, não revelou nenhuma arteriola com o espessamento da chamada «arteriosclerose hyperplastica».

Dos factos que acabam de ser expostos se vê que quando se evita a retracção postmortal das arteriolas pulmonares, mediante uma fixação precoce do pulmão de cobaya, antes de se abrir a caixa thoraxica, as arteriolas deixam de apresentar o aspecto interpretado como arteriosclerose hyperplastica.

Estas observações permittem concluir que o espessamento das paredes arteriolares dos pulmões, do figado e do baço não seja um phenomeno de significação pathologica e sim um artefacto consequente á retracção postmortal dos tecidos. Se isso pode ser generalizado a outras especies animaes usadas em experiencias de producção de arteriosclerose ou se, além desses phenomenos postmortaes, existe um espessamento hyperplastico das arteriolas, é assumpto que não foi ainda pesquizado e nos parece digno de estudo, para evitar a confusão, muito facil, entre phenomenos realmente pathologicos processados em vida e phenomenos postmortaes sem maior significação.

Post mortal changes in guinea pigs resembling hyperplastic arteriosclerosis

In order to test wether thickenings of small arteries were or not due to post mortal changes, microscopical examinations of tissues of guineapigs injected before death with formalin, were carried out.

Injections were made in the trachea or in the heart, of normal guineapigs anesthetised by ether. Tissues were taken from lungs, liver, spleen and kidneys about two hours after death and then fixations were completed in a 10 % formalin solution. Examinations made on sections stained by hematoxylin and eosin showed a normal appearance of the small arteries throughout all organs examined. Their cavities were wide open, their walls rather thin and the muscular layer without the vacuolisation wich is common in this layer, when fixation occurs after the death of the animals.

In conclusion the author calls attention to the fact that great care must be taken while interpreting changes resembling those of the hyperplastic arteriosclerosis, when examinations are carried out on organs from guinea pigs, whose tissues were hardened under ordinary conditions.

———o———

EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

Estampa 5

Fig. A — Arteriola da cobaya normal (280) anesthesiada e injectada no coração com 2 cc. de formol. Notar que as paredes da arteriola são normaes, a cavidade da mesma é ampla e livre.

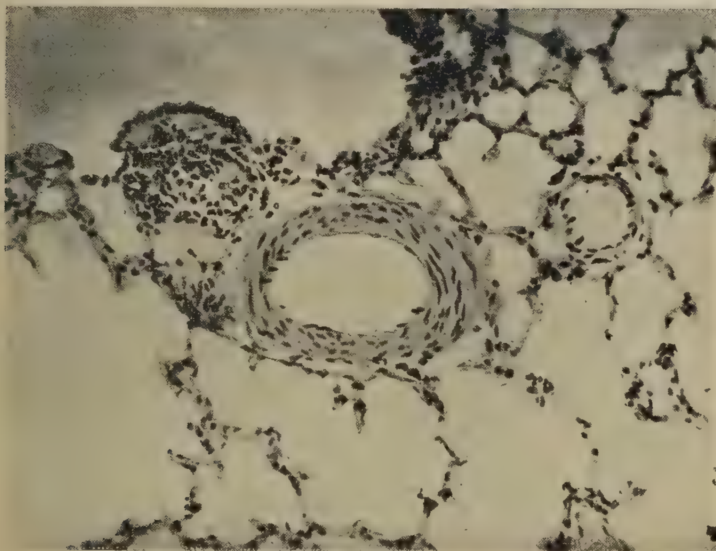
Fig. B — Arteriola pulmonar da cobaya normal (310) anesthesiada e injectada com 3 cc. de formol. Mesmos caracteres de uma arteriola normal.

Estampa 6

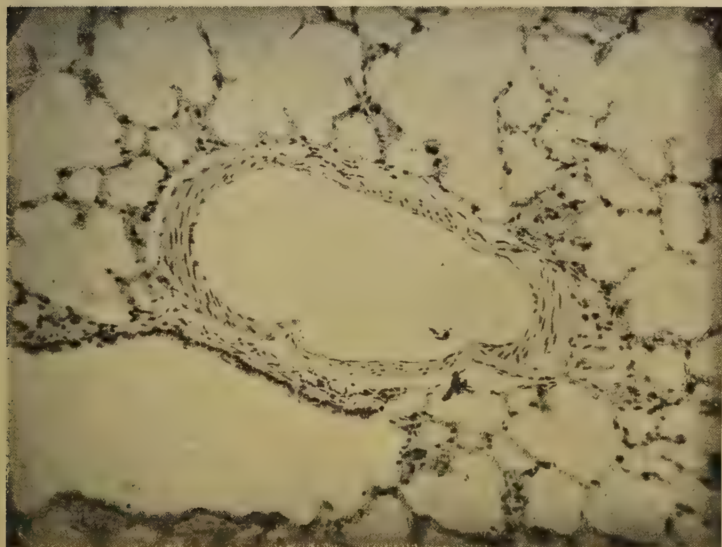
Fig. C — Arteriola pulmonar de cobaya anesthesiada e injectada com 2 cc. de formol na trachea. A unica differença entre esta arteriola e as das estampas anteriores consiste em a cavidade conter uma pequena quantidade de sangue, talvez pelo facto de, neste caso, a injecção de formol ter sido feita na trachea.

Fig. D — Arteriola de pulmão de cobaya normal. Fixação feita cerca de uma hora após a morte. O aspecto é o da chamada «arteriosclerose hyperplastica», o qual apparece nos orgãos da cobaya em consequencia a retracção post-mortal das arteriolas.

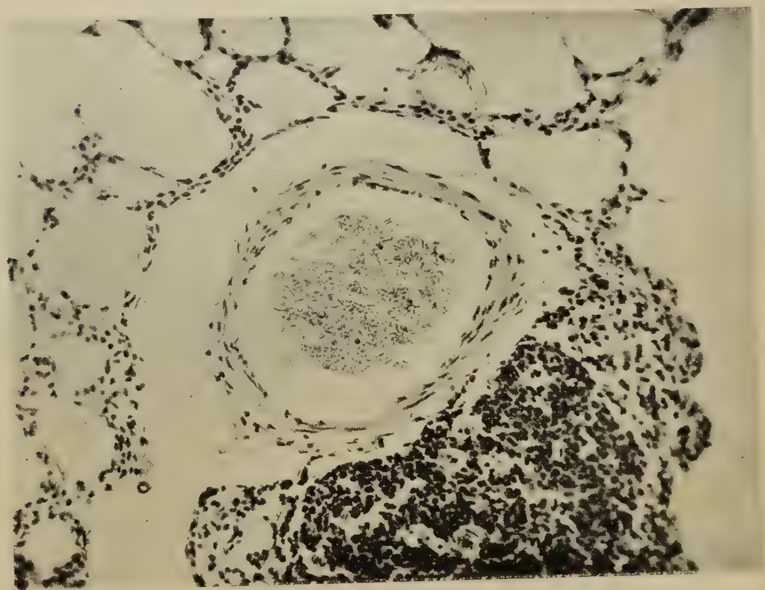
———o———



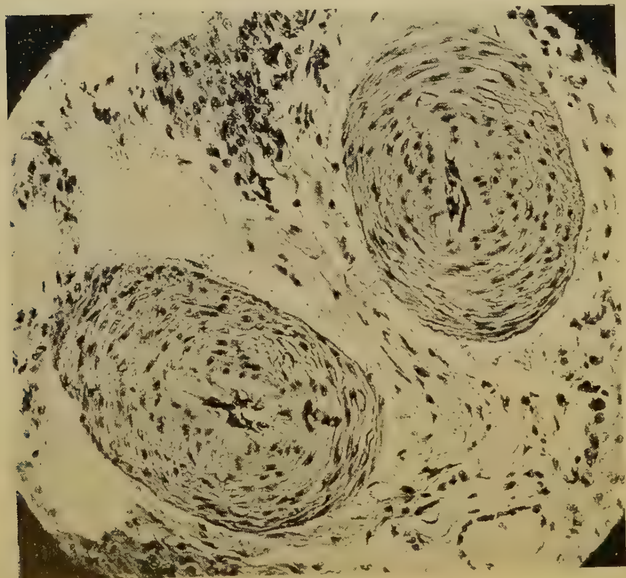
A



B



C



D

Vol. 8 — Art. 4 Dezembro de 1937

A BRÓCA DO ALGODOEIRO DO BRASIL GASTEROCERCODES BRASILIENSIS HAMBLETON (COL. CURCUL.)

POR

E. J. Hambleton

Trabalho do Instituto Biologico de S. Paulo

Com 9 figuras no texto e estampas 7-18

INDICE

INTRODUCÇÃO

Em virtude da falta de informações detalhadas sobre a biologia da bróca do algodoeiro, e do constante augmento dos prejuizos provenientes do ataque desse insecto em todas as regiões algodoeiras do Estado de São Paulo, pareceu-nos de bom alvitre fazer um estudo dessa praga com o fim de se poder formular, com maior segurança, as medidas mais efficazes para o seu combate.

Durante o periodo da presente investigação, a qual começou em Novembro de 1935, em Campinas, estudos pormenorizados foram effectuados e constaram da sua distribuição, plantas hospedeiras, historia da vida, habitos, inimigos naturaes, e susceptibilidade quanto ás medidas de combate. Esses trabalhos foram realizados, até o presente, sem interrupção.

Os resultados que apresentamos nesta publicação estão baseados em observações realizadas durante a safra algodoeira 1935-936. Taes observações foram feitas tanto nas condições do insectario, como nas condições naturaes do campo. As medidas de combate mencionadas não estão concluidas, porque ainda se realizam experiencias mais amplas no campo, as quaes posteriormente serão divulgadas em outra publicação.

De accordo com a literatura em mãos, o insecto sob a nossa consideração é uma praga dos algodoeiros do Brasil, conhecida ha 32 annos. Desde a primeira informação authentica da especie, iden-

tificada por COSTA LIMA (*) como *Gasterocercodes gossypii* PIERCE, e publicada em 1916 por IGLESIAS (**) como uma praga do algodoeiro do Brasil, a bróca tem sido denominada e reconhecida sob essa designação em todo o paiz. No principio do anno de 1937 surgiu certa duvida acerca da identidade da especie, e, depois de comparal-a com specimens de *Gasterocercodes gossypii,* provenientes da localidade do typo em Piura, recebidos de JOHANNES E. WILLE, entomologista da Estação Experimental de La Molina, Perú, a bróca brasileira foi definitivamente reconhecida como uma especie distincta. Diversos exemplares do insecto dessa região, obtidos em Campinas, foram tambem submettidos a C. F. W. MUESEBECK, do Bureau de Entomologia dos Estados Unidos, e comparados por L. L. BUCHANAN com os typos de *Gasterocercodes gossypii* no National Museum, Washington, D. C., confirmando-se assim a opinião do autor.

O insecto em estudo foi recentemente descripto pelo autor (***) como novo para a sciencia. A descripção original do adulto está sendo repetida, para acompanhar os demais estadios do insecto.

O autor deseja externar seus agradecimentos aos Snrs. Candido de Moraes e João de Oliveira, da Inspectoria Geral do Serviço Contra a Bróca do Café em Campinas, pelo interesse e auxilios prestados durante o andamento destes estudos, e ao Dr. Theodureto de Camargo, director do Instituto Agronomico e a outros membros do mesmo Instituto, pela autorização concedida para uso de terras experimentaes; ao Dr. S. C. Harland, conselheiro technico do Instituto Agronomico, pelo interesse com que acompanhou os trabalhos e pelas informações relativas á resistencia das especies de *Gossypium,* á bróca. Especiaes agradecimentos são devidos ao Snr. Benedicto L. Ribeiro, que foi de inapreciavel auxilio nos trabalhos sobre o cyclo evolutivo, e aos Snrs. Rubens P. Machado e João Marcilio Jr. que foram, tambem, muito diligentes nos estudos de insectario. Agradecimentos são tambem devidos aos Drs. C. F. W. Muesebeck, A. B. Gahan e C. A. Cushman do «U. S. National Museum» de Washington, D. C., pela amabilidade em determinar os parasitas; ao Dr. Henrique Sauer, assistente technico do Instituto Biologico, pelas suggestões e pela traducção do manuscripto; á Snrta. M. Lourdes Nery de Aquino, por auxilios diversos, ao Snr. Antonio R. Mazza, pelos desenhos, e aos Snrs. A. Federman e Bruno Mazza pela maioria das photographias.

---

*) COSTA LIMA, A. da — 1936 — Terceiro catalogo dos insectos que vivem nas plantas do Brasil. Ministerio da Agricultura, Rio de Janeiro, 460 pp.

**) IGLESIAS, F. — 1916 — Insectos nocivos e uteis ao algodoeiro. Bol. de Agr. de S. Paulo, 17 (12): 968-978, figs.

***) HAMBLETON, E. J. — 1937 — Uma nova especie de *Gasterocercodes* Pierce, broca do algodoeiro no Brasil. Rev. de Entomologia, 7: 345-350, figs.

HISTORICO

A primeira referencia a *Gasterocercodes brasiliensis,* em literatura de entomologia economica, foi feita por VERT (*) que em 1905 escreveu uma pequena nota sobre a historia e habitos da vida do insecto, como uma praga dos algodoeiros em São Paulo. Esse autor, contudo, foi incapaz de estabelecer a identidade da especie, tratando-a como um «curculionide, cujo aspecto geral lembra os vulgares carunchos». Pelas illustrações que acompanham o trabalho de VERT não póde haver duvida de que o insecto que estudamos é o mesmo que BONDAR (**), posteriormente, declara haver descoberto pela primeira vez em Campinas, São Paulo, e cuja identificação, naquella occasião, lhe era desconhecida. No Brasil, IGLESIAS, em 1916, divulgou a primeira publicação acerca da bróca do algodoeiro, sob o nome de *Gasterocercodes gossypii* Pierce, tendo realizado estudos de campo nos Estados de Maranhão e Piauhy. Mais tarde, 1925, BONDAR (**) constatou o insecto no Estado da Bahia e publicou as suas observações, usando o mesmo nome dado por IGLESIAS.

DISTRIBUIÇÃO GEOGRAPHICA

A bróca do algodoeiro, *Gasterocercodes brasiliensis* é originaria da America do Sul. A sua presença foi verificada, além do Estado de São Paulo, nos Estados de Maranhão, Ceará, Bahia, Espirito Santo, Minas Geraes (zonas da Matta e Norte), Rio de Janeiro, Districto Federal e Paraná.

Emquanto não tivermos a confirmação da identidade da especie que occorre em outros Estados, manteremos a supposição de que a mesma especie existe nos demais Estados da União.

Considerando a presença da bróca do algodoeiro em outros paizes sul-americanos, A. A. OGLOBLIN, em carta de 20 de Outubro de 1936, informou ao autor que ella occorre no norte da Argentina (Chaco). Comtudo, sua presença alli, foi praticamente ignorada até recentemente, quando JUAN M. BOSK, da Divisão de Zoologia Agricola em Buenos Aires, affirmou definitivamente que os curculionideos recebidos de P. R. SAENZ PEÑA (Chaco) eram specimens semelhantes aos que foram remettidos de Campinas para confirmação. O Snr. BOSK colheu dois individuos desta especie no Chaco.

Embora o *Gasterocercodes brasiliensis* provavelmente exista, desde muitos annos, nos algodoaes do Brasil, só ultimamente despertou elle attenção como praga economica. Sem duvida as especies torna-

*) VERT, G. — 1905 — Parasitas do algodoeiro na Fazenda Modelo de Piracicaba. Bol. de Agr., 6 (4): 156-165, figs.

**) BONDAR, G. — 1925 — *Gasterocercodes gossypii,* a bróca nas raizes do algodoeiro. Correio Agricola, 3 (9): 241-248, figs.

ram-se facilmente habituadas ás extremas condições de clima, como se póde vêr pela distribuição conhecida, a qual comprehende as regiões tropicaes e subtropicaes do paiz, e por sua rapida apparição, dentro de poucos annos, em novas zonas algodoeiras.

No Estado de São Paulo a bróca do algodoeiro manifestou-se rapidamente onde a cultura do algodão foi desenvolvida, constituindo agora uma praga de grande importancia economica em quasi todos os algodoaes paulistas.

IMPORTANCIA ECONOMICA

A bróca do algodoeiro é uma das pragas mais prejudiciaes á cotonicultura do Estado de São Paulo. Como os ataques desse insecto são bem visiveis e se prolongam por todo o periodo cultural do algodão, as perdas globaes por elle causadas pódem ser consideradas iguaes ou apenas ligeiramente inferiores ás que são produzidas pela lagarta rosada, *Platyedra gossypiella* SAUND. Os estragos já estão generalizados, e em algumas regiões a sua extensão é tão pronunciada que os lavradores já começam a abandonar essa cultura. Não se póde ter uma idéa exacta dos prejuizos causados pela bróca, porque ella já se diffundiu e está definitivamente estabelecida na maioria dos algodoaes, praticamente, ameaçando causar vultuosas perdas á industria algodoeira do Estado. De 1930 a 1936 essa cultura augmentou, em São Paulo, de 10.500.000 kilos a 184.000.000 kilos, approximadamente, calculados em 800.000 contos de réis. Grandes regiões novas estão sendo destinadas á sua plantação e, tomando-se em consideração o incremento que annualmente se verifica na producção, os prejuizos originados pela bróca não se fazem sentir visivelmente no conjuncto total, e, devido a isso, muito pouca acção tem sido desenvolvida no sentido de atalhar o augmento sempre crescente das perdas provocadas por tal insecto. E' muito difficil e quasi impraticavel determinar definitivamente os prejuizos actualmente proporcionados pelo *Gasterocercodes brasiliensis*. Estimando, com optimismo, os prejuizos tidos na safra 1935-936, taes perdas são avaliadas em 30.000.000 kilos. Si tomarmos como preço médio, por arroba, 17$000, constataremos que serão de 34.000 contos de réis as perdas totaes para a safra mencionada.

DESCRIPÇÃO DOS ESTADIOS

OVO

Estampa 9, fig. *F* e est. 10, fig. *H*

O ovo mede em media 0,592 mm. de comprimento por 0,452 mm. de diametro. Tem a coloração creme-esbranquiçada, logo ou pouco após a postura, tornando-se depois amarellado. Oval, arredondado nas extremidades, mas bastante variavel em tamanho e forma, de accordo com a cavidade onde é depo-

sitado; chorion liso, brilhante, mais ou menos flexivel e resistente. O ovo poucos dias depois da incubação torna-se semi-opaco, o seu conteúdo é visivel atravez do chorion, e, na ultima parte do periodo de incubação, a cabeça da larva póde ser vista por transparencia.

LARVA

Figuras 1-7 e estampa 10, fig. *1*

A larva adulta mede de 5,83 mm. a 7,04 mm. de comprimento e de 2,14 mm. a 2,54 mm. de largura. Corpo de coloração variavel, de branco a creme, carnudo e sem patas; tem a forma usual dos curculionideos, sendo cylindrica e curvada.

Cabeça: (fig. 2) pardo-amarellado-claro, bordos escuros, com margens anteriores e mandibulas muito mais escuras; estas são pretas em suas extremidades distaes. Cabeça, da margem anterior da fronte ao foramen occipital, ligeiramente mais comprida do que larga; lados arredondados. Largura media

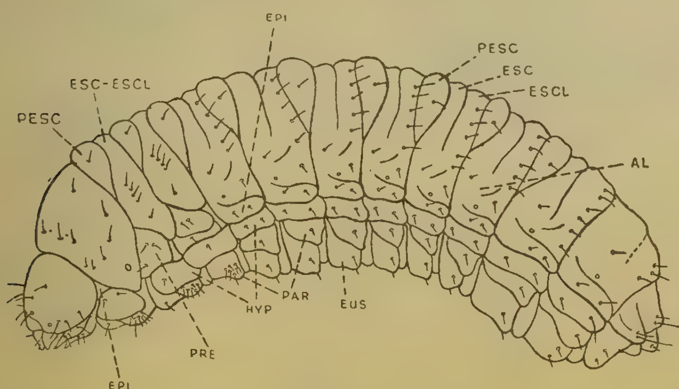
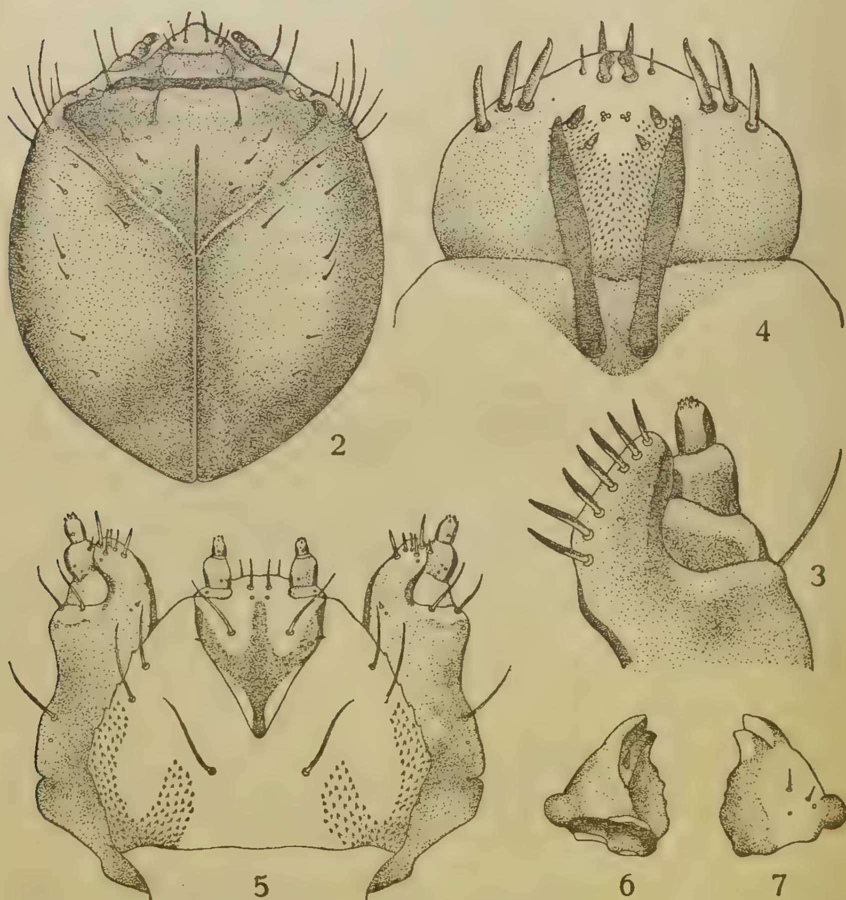


Fig. 1 — Larva de *Gasterocercodes brasiliensis*, × 17. AL - area alar; EPI - epipleura; ESC - escuto; ESC-ESCL - escuto-escutello; ESCL - escutello; EPI - epipleura; EUS - eusterno; HYP - hypopleura; PAR - parasterno; PESC - preescuto; PRE - Preepipleura.

da capsula da cabeça 1,13 mm. Sutura media epicraneal mais comprida do que a metade do craneo; suturas frontaes presentes. Cada metade epicraneal tem 13 cerdas de differentes tamanhos, dispostas conforme a figura. Fronte subtriangular, com uma linha media escura e distincta indicando a carena, que se extende cerca de 2/3 da distancia que vae do angulo posterior á margem anterior da fronte; 2 cerdas maiores e 3 menores, com 2 manchas sensoriaes dispostas em cada lado, conforme se vê na figura. Ocellos grandes e distinctamente pigmentados, abaixo e ligeiramente posterior ás antennas. Antennas biarticuladas; articulos basaes grandes e arredondados, com diversas papillas pequenas; articulo apical alongado, levemente pontudo e com um pequeno annel cylindrico na base. Clypeo mais de duas vezes mais largo do que comprido,

com duas pequenas cerdas de cada lado, proximas da sutura entre o clypeo e epistoma, e com uma mancha sensorial entre as cerdas. Labio transverso, ligeiramente mais comprido do que o clypeo, margem anterior possuindo 2 lóbos mal definidos e um lóbo mediano; em cada lado notam-se duas cerdas de tamanho medio e uma mais comprida. Epipharynge (fig. 4) possuindo:



Partes larvaes de *Gasterocercodes brasiliensis*. Fig. 2 — Capsula da cabeça, vista dorsal, × 50. Fig. 3 — Lóbo maxillar e palpo, vista dorsal, × 210. Fig. 4 — Epipharynge, × 270. Fig. 5 — Maxilla e labio, vista ventral, × 90. Fig. 6 — Mandibula, vista ventral. Fig. 7 — Mandibula, vista dorsal, × 60.

1) em cada lado, um grupo de 3 cerdas fortes, alongadas e pontudas no apice (a cerda mais externa menor do que as outras); 2) na margem anterior um grupo de cerdas paramedianas, disposto triangularmente; a cerda anterior muito mais comprida e pontuda, a posterior, curta, forte, ovalada e curvada, e a outra menor e delicada; 3) dentro da extremidade anterior de cada peça chiti-

nizada do epipharynge, 2 cerdas, uma perpendicular á outra, ambas fortes, um pouco recurvadas, sendo a cerda distal maior; 4) uma mancha sensorial trilobada. Mandibulas (figs. 6-7) fortes, subtriangulares, internamente levemente concavas, com base desenvolvida e condilos fortes; apice provido de um dente apical e outro sub-apical; na face externa duas cerdas de tamanho mediano e 3 póros. Maxillas (fig. 5). Cardo liso, pardo-amarellado, com 2 cerdas grandes proximas da base do palpifer, uma outra situada a quasi 2/3 da distancia, entre o palpifer e o cardo e duas manchas sensoriaes. Palpifer molle e sem cerdas. A extremidade do lóbo maxillar extende-se até á base do articulo apical do palpo ou ultrapassa-o ligeiramente; ponta obtusa e arredondada; face buccal com 7 cerdas fortes; na ponta da superficie ventral, com 2 cerdas compridas, 3 menores e uma mancha sensorial. Uma cerda muito pequena, com uma mancha sensorial, está presente na superficie ventral, no ponto de união entre mala e stipes. Palpos maxillares extendendo-se além do lóbo, biarticulado; penultimo articulo, grosso, cylindrico, possuindo na parte ventral 2 manchas sensoriaes e uma pequena cerda; articulo distal semelhante a dedo, com 10 ou mais pequenas papillas terminaes e uma mancha sensorial. Area de articulação do mento, submento e maxillas, fundidas; de cada lado 3 cerdas bem desenvolvidas. Stipites labiaes fundidos no meio, posteriormente limitados por uma chitinização que é concava anteriormente e alongada no meio; essa chitinização tambem se extende anteriormente entre os 2 stipites. Uma cerda comprida, outra pequena e uma mancha sensorial encontram-se sobre cada stipes. Lingula curta, carnuda; com um par de cerdas pequenas e um par de manchas sensoriaes; face dorsal com um par de cerdas pequenas e um par de manchas sensoriaes. Palpos labiaes biarticulados; articulo basal mais comprido do que duas vezes a largura do articulo apical, que é conico; articulo basal com uma mancha sensorial; articulo apical menor do que duas vezes a sua largura, papilloso na ponta e com uma mancha sensorial. Uma mancha sensorial proxima da margem posterior do articulo basal, mas commumente occulta pela dobra da cuticula do palpiger. Cavidade infrabuccal constituida de um hypopharynge.

Thorax: Prothorax dorsalmente sem divisões, placa thoraxica ligeiramente chitinizada e provida de 9 pares de cerdas e 2 pares de manchas sensoriaes. O primeiro estigma thoraxico situado bem distante da margem prothoraxica anterior; cerca de duas vezes mais largo do que os estigmas abdominaes. Segmentos mesothoraxicos e metathoraxicos divididos dorsalmente em um preescuto, um escuto-escutello e uma area alar. Preescuto com um par de cerdas, escuto-escutello com 4 pares e cada area alar com uma cerda. Epipleura do prothorax triangular, sem cerdas, situada parcialmente na frente e parcialmente abaixo do tergo, acima da hypopleura. Preepipleura do mesothorax grande, mais ou menos triangular e provida de 3 cerdas; postepipleura mesothoraxica pequena e alongada. Preepipleura metathoraxica e postepipleura semelhantes, correspondendo ás areas mesothoraxicas, apenas apparecendo a primeira como si fosse dividida. Areas hypopleuraes e esternaes mais ou menos da mesma forma e posição; a hypopleura com 2 cerdas sobre o lóbo prothoraxico e uma cerda em cada lóbo mesothoraxico e metathoraxico. Eusterno grande, com uma cerda em cada lado; Parasterno (lóbo coxal) triangular, arredondado, geralmente com 2 cerdas normaes e 4 cerdas mais pequenas.

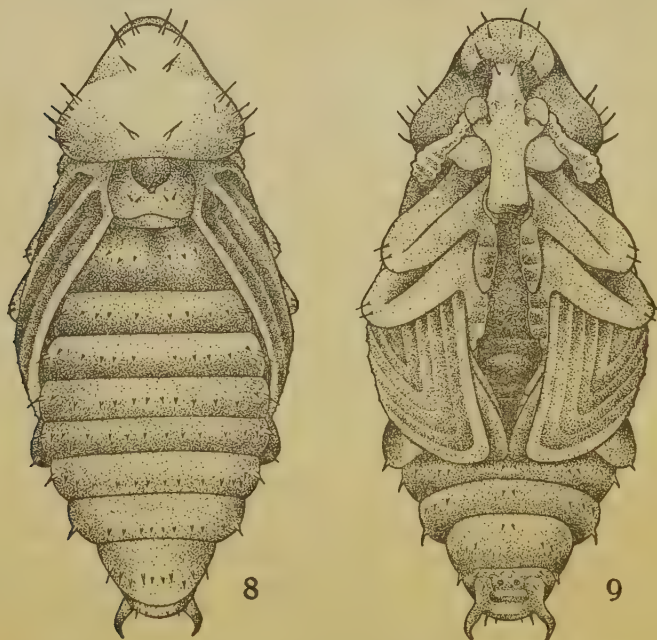
Abdomen: os 7 primeiros segmentos abdominaes semelhantes na forma e tamanho. Tergo dividido em preescuto, escuto, escutello e area alar. Pre-

escuto com uma cerda; escuto sem cerda; cada escutello com 2 cerdas grandes e 3 menores; cada area alar com um par de cerdas. Abaixo da area tergal encontra-se a epipleura com um par de pequenas cerdas limitadas pela sutura ventro-lateral. Hypopleura abaixo da sutura ventro-lateral, com 2 cerdas cada uma; o lóbo coxal com uma cerda e o eusterno com 2 pares de cerdas. O oitavo segmento abdominal parece dividido em 2 areas; escuto com uma pequena cerda e escutello com uma cerda comprida e 2 menores. Tergo do novo segmento abdominal sem divisão; as areas, sendo soldadas, formam um grande lóbo terminado em uma cerda grande e outra pequena, de cada lado; as areas abaixo da sutura ventro-lateral, soldadas, formando um grande lóbo circular e com 2 pares de cerdas. Decimo segmento abdominal desenvolvido em 3 pequenos lóbos, um de cada lado do anus, com uma pequena cerda cada um e o outro abaixo do anus e sem cerda.

NYMPHA

Figs. 8 - 9

Comprimento 3,90 mm. a 5,77 mm., largura 1,87 mm. a 2,61 mm.. Uniformemente branca quando formada, tornando-se, depois, de coloração creme. Cabeça arredondada, levemente afilada dos lados, formando um angulo obtuso opposto a cada envoltorio do olho; bico alongado, attingindo a base das pernas mesathoraxicas; cabeça com 2 pares de cerdas de tamanho medio, um na margem



Nympha de *Gasterocercodes brasiliensis*. Fig. 8 — Vista dorsal. Fig. 9 — Vista ventral, × 18.

anterior do envoltorio do olho e outro, de cada lado, na porção media entre o envoltorio do olho e a margem anterior da cabeça; bico com 4 pares de cerdas, um proximo da base e entre os envoltorios dos olhos, os outros 3 pares proximos da base da antenna, mas acima della. Envoltorios dos olhos, ovaes, alongados; a distancia entre elles é menor do que a largura do bico. Antennas geniculadas, extendendo-se até as margens lateraes da nympha. Prothorax subtriangular, arredondado na frente, com 2 pares de tuberculos setigeros anteromarginaes, 4 pares latero-marginaes e 2 pares dorsaes. Mesonoto e metanoto providos cada um com 2 tuberculos setigeros, de cada lado da area mediana. Elytros, azas e extremidades tarsaes todos terminando no quinto segmento abdominal, pontas das azas extendendo-se além dos elytros. Elytros providos de fileiras longitudinaes de pequeninos tuberculos conicos. Abdomen com 8 tergites distinctos, area mediana de cada um dos 7 primeiros tergites com uma fileira transversal de 5 a 7 pares de cerdas, cujo tamanho varia; o oitavo tergite muito pequeno e com 4 pares de cerdas. Ha tambem uma pequena cerda lateral em cada pleura do primeiro ao oitavo segmento abdominal; os segmentos ventraes abdominaes têm, cada um, 4 pares de cerdas muito pequenas, dispostas mais ou menos em linha transversal, com excepção do oitavo e nono segmentos, nos quaes as cerdas estão arranjadas conforme se vê na figura 9; o nono segmento abdominal é provido de um par de fortes espinhos terminaes.

ADULTO

Estampa 10, fig. *G*

A descripção original da especie, publicada na «Revista de Entomologia», Vol. 7, pp. 345-350, 1937, é a seguinte:

Gasterocercodes brasiliensis HAMBLETON

Differt a specie genotypica *gossypii* Pierce corpore robustiore et magis elongato, colore obscuriore, prothorace densius et minus grosse punctato, setis dorsalibus prothoracis et elytrorum minus longis et magis attenuatis, et vagina penis robustiore et apice magis chitinizato.

Corpo pardo-escuro bastante ennegrecido, pouco brilhante; bordo anterior do pronoto lustroso, patas pardo-vermelhas; face ventral do corpo tambem mais ou menos pardo-avermelhada.

Cabeça da côr do corpo, arredondada, finamente reticulado-pontuada á guisa de dedal, vertice com pequenas puncturas rasas esparsas, fronte com puncturas mais grossas e mais densamente agrupadas; de cada punctura nasce um pêlo curto. Rostro moderadamente arqueado, pontuado-rugóso, com sulco lateral para recepção das antennas, no meio com uma linha dorsal mediana lisa mais ou menos saliente; esta linha lisa é na femea dilatada no 3.º quarto, formando uma área allongada lisa, com poucas puncturas; no macho, esta mesma zona é muito mais rugosa; a pubescencia do rostro é abundante e formada por pêlos cerdosos escamiformes, que se inserem nas puncturas e começam na margem superior dos olhos. Antennas vermelho-ferruginosas; escapo liso, com poucos pêlos extremamente finos, attenuado no meio, dilatado na metade distal, attingindo quasi a margem ocular anterior; funiculo com poucos pêlos sub-erectos, compondo-se de 7 articulos; o primeiro articulo funicular é o mais comprido e engrossado, claviforme; o segundo é muito mais fino, distinctamente mais com-

prido que largo, os seguintes articulos (3-7) são progressivamente abbreviados e ligeiramente dilatados; clava de 1 articulo, oval-allongada, tão comprida como os 4-5 articulos funiculares precedentes addicionados; a pubescencia da clava é fina, adjacente e densamente agrupada. Olhos ellipticos, deprimidos, preto-brilhantes; seu diametro longitudinal é menor que o dobro do diametro transversal; cerca de 1/3 do olho é occulto pelo lóbo postocular do prothorax; as facetas são grossas, gradativamente um pouco menores anteriormente do que na margem superior.

Prothorax densa e finamente reticulado-pontuado, bordo antero-dorsal liso e brilhante; toda a superficie, excepto o bordo anterior, com puncturas profundas e grossas, densamente agrupadas, dando ao prothorax um aspecto foveolado; cada punctura dá origem a uma pequena cerda; a distancia que separa as puncturas é menor do que o diametro de cada punctura; só no meio do dorso algumas puncturas são mais distanciadas; ás vezes ha o vestigio de uma linha curta sub-basal mediana lisa, inconspicua e estreita. Lóbos lateraes do prothorax mais ou menos proeminentes. Escutello pequeno, triangular.

Elytros pelo menos duas vezes e meio mais compridos do que o prothorax, com os bordos lateraes sub-parallelos; cada elytro com 6 estrias longitudinaes dorsaes, 2 humeraes e 2-3 epipleuraes; essas estrias são menos profundas que em *gossypii* e apresentam uma fileira de puncturas muito pequenas e distanciadas, nas quaes raramente se inserem pêlinhos. Intervallos (entre as estrias) moderadamente convexos, com puncturas finas pouco numerosas, irregulares, rasas e pubescencia muito esparsa e curta; os pêlos variam em forma e tamanho, não dando aos elytros um aspecto eriçado. Toda a superficie dos elytros é finamente reticulada.

Patas pardo-vermelhas; femures foveolado-rugosos, com numerosas cerdas ou escamas adjacentes amarello-pallidas; face ventral dos femures canaliculada, no terço distal excavada. Todas as tibias fortemente unguiculadas no apice.

Abdomen na face ventral finamente reticulado (como nos elytros), com puncturas grossas, mas mais densamente agrupadas do que no prothorax, com numerosos pêlos cerdosos. Quinto esternito abdominal no macho com a extremidade truncada; na femea com a extremidade arredondada e ligeiramente curvada para baixo. Fosseta do penis mais robusta e na margem apical mais chitinizada do que em *gossypii*.

Comprimento total 3,04 a 4,87 mm.; largura 1,4 a 2,10 mm.

PLANTAS HOSPEDEIRAS

As plantas hospedeiras da bróca do algodoeiro, tanto quanto nos tem sido possivel determinar, estão limitadas ao genero das Malvaceas — *Gossypium* (algodoeiro) e *Hibiscus* (quiabeiro), as quaes são as mais propicias de todas quanto occupam a nossa attenção. Bondar 1925 considera o quiabeiro *(H. esculentus)* como um hospedeiro muito susceptivel, no Estado da Bahia. Menciona igualmente ter obtido dois insectos adultos, de «vassourinha de relogio», Malvacea, provavelmente pertencente ao genero *Sida*. Como a identidade desta planta é desconhecida e como é sabido que duas outras especies de curculionideos, muito semelhante na apparencia geral ao *Gastero-*

cercodes brasiliensis, se criam em *Sida* spp., não nos parece provavel que este grupo de plantas possa ser considerado como verdadeiro hospedeiro da bróca, emquanto melhores estudos não sejam realizados.

As variedades annuaes e perennes de algodoeiros servem para hospedar a bróca durante os mezes de inverno ou durante o tempo que vae da colheita até a nova plantação. O quiabeiro igualmente servirá muito bem como hospedeiro, si lhe for permittido desenvolver-se no campo depois da colheita do algodão. Do ponto de vista de prejuizos economicos, o algodoeiro herbaceo, *Gossypium hirsutum* L. é a planta hospedeira mais importante, parecendo ser tambem a principal fonte de contaminação dos novos campos de algodão.

Na Fazenda Experimental do Estado, em Tatuhy, em Maio de 1936, o autor encontrou o *G. brasiliensis* criando-se em *Hibiscus sabdariffa* L. que nascera espontaneamente no meio do campo de cultura.

Outras plantas, que commumente occorrem nos algodoaes e proximo delles, pódem ser consideradas como possiveis hospedeiros da bróca. Apezar das plantas capazes de alimentar as larvas restringirem-se habitualmente a poucas especies, experiencias realizadas com insectos adultos, em captiveiro, demonstraram que elles pódem alimentar-se de folhas e caules de *Sida rhombifolia* L., *Sida cordifolia* L., *Sida acuta* L., *Malvastrum coromandelianum* Garke., *Hibiscus rosa-sinensis* L. e *Chorisia speciosa* St. Hil.

Com experiencias mais desenvolvidas talvez seja possivel chegar a alguma conclusão referente á capacidade, quanto aos insectos adultos, de se alimentarem de certas plantas communs nos algodoaes ou proximo delles, fornecendo um meio para se explicar como a disseminação se faz em áreas onde os campos de algodão distem alguns kilometros uns dos outros.

RESISTENCIA DAS ESPECIES DE GOSSYPIUM Á BRÓCA

As observações da collecção das especies de *Gossypium,* feitas na Fazenda Sta. Eliza, Campinas, durante 1936-937, revelaram differenças interessantes quanto á susceptibilidade dos diversos typos.

Os mais seriamente atacados foram *Gossypium purpurascens* Poir (Mocó) e *G. punctatum* Sch. et Thon. (West African), seguidos por Uplands (*G. hirsutum* L.) e *G. barbadense* L. (Sea Island, Egyptian e typos arboreos). A mais resistente foi a especie selvagem norte-americana *G. trilobum* Moc. et Sess., cujo ataque foi em pequenas pro-

porções, parecendo ser desagradavel á bróca. As especies asiaticas cultivadas — *G. arboreum* L. e *G. herbaceum* L. soffreram elevada infestação.

NATUREZA DO ATAQUE

No estado adulto a bróca só é directamente responsavel por pequenos damnos ao algodoeiro; é muito mais prejudicial na phase larval. Logo que as plantinhas apparecem, as brócas adultas são atrahidas por ellas, para se alimentar e fazer a postura. Entretanto os adultos se alimentam primeiramente por varios dias, antes de iniciar a oviposição. Em se alimentando, as brócas fazem pequenas perfurações superficiaes nos caules, muitas vezes cortando-os em dois, ou pequenos buracos nas folhas, causando o enrugamento e quéda dellas. Prejuizos dessa especie pódem ser facilmente confundidos com os que são muitas vezes causados por outros insectos que se alimentam de folhas, como certos orthopteros e chrysomelideos. Todavia taes prejuizos são observados mais commumente no começo da cultura (estampas 11 e 14).

A' medida que os algodoeiros se desenvolvem, as brócas adultas mostram consideravel preferencia pelas hastes, especialmente pela parte mais proxima da superficie do solo; depois que a postura dos ovos se inicia, a sua alimentação se restringe principalmente a essa porção da planta.

Em muitos casos o primeiro signal de infestação que o agricultor observa é a queima e seccagem das folhas das plantinhas, quando têm um ou dois mezes de idade. Esses prejuizos são causados pelas larvas que broqueiam o interior do caule ou raizes das plantas (estampa 10, fig. I e estampas 11 e 13). Assim, muitas plantas, antes de attingir a altura de 20-25 cms., são mortas por taes larvas. Em principios de Dezembro a população de novas larvas augmenta tanto, que se encontram de 1 a 14 individuos alimentando-se da mesma planta hospedeira. As plantas mais intensamente atacadas quasi sempre morrem, a menos que tenham crescido sufficientemente para resistir ao ataque e as condições para o seu desenvolvimento sejam excepcionalmente favoraveis. A' medida que as plantas vão crescendo, as actividades alimentares das larvas se restringem quasi inteiramente á porção entre a camada fibrosa externa ou casca, e o lenho. Extensas galerias são feitas em todas as direcções, muitas vezes circulando completamente a planta, causando o seu emmurchecimento e morte. Depois que os algodoeiros começam a floração, época em que contêm até 37 individuos, uma planta seriamente atacada é susceptivel de murchar repentinamente durante um dia quente, nunca mais recuperando o vigor, ou então póde quebrar-se no nivel do solo.

Plantas ha que mostram signaes de fraqueza quando as folhas se tornam pallidas ou «vermelho bronzeado». As plantas mais vigorosas pódem emittir raizes adventicias si o ataque estiver principalmente limitado á raiz mestra e si a terra estiver amontoada nos pés. Si não fosse essa capacidade consideravel da planta, de cicatrizar as suas feridas, os prejuizos causados pelo ataque da bróca talvez fossem muito maiores. Isso é especialmente verificado nos solos em que plantas seriamente prejudicadas formam grandes nodulações ou «hypertrophias», logo abaixo da superficie do terreno, no ponto de ataque. Essas nodulações fendem-se ou ficam lenhosas e suberosas depois de continuo ataque, tornando-se improprias para a postura. Nesse caso os insectos dirigem as suas actividades para as partes aereas, de preferencia as hastes, em qualquer altura acima do terreno. Os ovos são depositados sob a casca, geralmente nas bifurcações, e as larvas recem-nascidas penetram a haste ou fazem galerias dentro dos galhos. Nas partes aereas as larvas alimentam-se quasi exclusivamente da medulla. Algumas vezes os ovos são depositados na base das maçãs em desenvolvimento e as larvas nascidas desses ovos se criam, até á maturidade, nessas mesmas maçãs. O ataque a essa porção da planta não é commum, excepto nos campos onde as condições são muito desfavoraveis para a postura nos outros locaes, sendo as femeas obrigadas a procurar os capulhos verdes. A alimentação, nas maçãs, está limitada aos septos e ás paredes.

ACTIVIDADE DA BRÓCA

No Estado de São Paulo, a bróca do algodoeiro póde ser encontrada em qualquer mez, em todos os estadios; depois da colheita (de Junho a Setembro), porém, não é facilmente achada, a menos que os algodoeiros permaneçam durante esse tempo no terreno. A oviposição e desenvolvimento larval continuam emquanto as plantas estiverem verdes e as condições de temperatura forem favoraveis. As brócas adultas mantêm-se quietas quando faz frio, tornando-se activas sempre que haja augmento de temperatura. Quando o inverno se approxima as brócas procuram esconder-se sob os capins, mattos e restos de cultura amontoados no campo; pódem, tambem, occultar-se nas fendas do terreno, proximo á base de velhas raizes e, particularmente, em lugares que lhes offereçam sufficiente quantidade de alimento e humidade. Não obstante poder a actividade da bróca ser contínua durante todo o anno, o acasalamento é consideravelmente reduzido nos mezes mais frios.

A oviposição das femeas que atravessam o inverno principia em Setembro ou Outubro, na occasião em que as plantinhas attingem

á altura de 8 a 10 cms. Grande numero dessas plantas são mortas pelas larvas, que perfuram o centro dos caules, acontecendo muitas vezes que não sómente morre a planta, como tambem a propria larva, desde que ésta não esteja sufficientemente desenvolvida para completar sua transformação antes que o algodoeiro se torne inteiramente secco. Desse modo muitos individuos morrem e, durante a cultura 1935-936 a primeira geração de adultos só appareceu em 26 de Novembro, proveniente de material colhido no campo e deixado em um insectario, onde alcançaram a maturidade.

A postura dos adultos que transpuzeram o inverno continuou até depois de meiados do mez de Abril, e os ovos das femeas da primeira geração foram obtidos muito antes que tivesse cessado a oviposição das que atravessaram o inverno. A postura da segunda geração começou em Abril, continuando as femeas, tanto da primeira como da segunda geração, a desovar, no insectario, durante os mezes de inverno.

FACTORES QUE AFFECTAM A SOBREVIVENCIA DURANTE O INVERNO

O estado actual das fazendas de São Paulo proporciona opportunidades excepcionalmente favoraveis á sobrevivencia da bróca durante o inverno. Os plantios em larga escala e a falta de empregados são dois factores que indirectamente auxiliam o augmento da sobrevivencia do Gasterocercodes. Os algodoaes que não são cuidados desde a colheita até um ou dois mezes antes que se realize o plantio da outra cultura, offerecem condições ideaes para a bróca na época fria do anno. Além da protecção que dispensam á praga nesse periodo, muitos outros individuos são ahi criados e poderão viver facilmente até a nova plantação. Grande numero de brócas que apparecem pelo fim do verão e do outomno são perfeitamente capazes de atravessar o inverno, em vida um tanto semi-activa, em áreas onde as soqueiras ou as raizes mestras permaneceram, ou em locaes que possuam malvaceas que as suppram de agua e alimento. As porções de raizes que ficam enterradas nos terrenos hospedam larvas de diversas idades que, mais tarde, se transformam em adultos capazes de infestar novas plantações poucos mezes depois. Na falta de algodoeiro, as brócas pódem alimentar-se de varias especies de *Sida,* commumente conhecidas como «guaxumas», que existem praticamente em todos os algodoaes ou nas margens dos terrenos cultivados, durante os mezes de inverno. Além dessas, talvez algumas outras plantas nativas forneçam o alimento nessa epoca. Os hospedeiros da bróca, já conhecidos, taes como o *Hibiscus esculentus, H. sabdariffa* e o algodão arboreo, não sendo muito diffundidos

nem muito communs, não pódem ser considerados factores muito importantes na sobrevivencia durante o inverno.

Depois da colheita, em Julho de 1936, foi feita uma experiencia para provar a possibilidade, já de hibernação, já de sobrevivencia. Tres gaiolas de 1 e $^1/_2$ m^3 de capacidade, cobertas com tela (estampa 16, fig. *U*), foram collocadas num algodoal. Uma tinha em seu interior 10 cms. de mattos seccos, bem como folhas de algodão; a segunda foi posta sobre algodoeiros vivos, e a terceira, sobre um terreno que fôra cultivado e estava isento de mattos, não contendo nenhuma protecção. 150 plantas, cada uma com as respectivas raizes, a maioria atacada pela bróca, foram postas em cada gaiola e deixadas, sem mexer, por um praso de 93 dias, ou seja até a época do plantio. Nessa occasião os conteúdos de cada uma foi retirado e o solo peneirado para que se obtivessem as brócas vivas ahi existentes. O resultado dessa experiencia se mostra na tabella n.º 1.

TABELLA 1

Sobrevivencia da bróca do algodoeiro em gaiolas, de accordo com typo de protecção — Campinas, 1936

Typo de protecção	N.º de caules collocados	Quando foram collocados	Quando foram examinados	N.º de dias em gaiolas	N.º de brócas retiradas	Temperatura media ºC.
Capim e folhas de algodoeiro, seccos	320	7-7-936	8-10-936	93	311	19,29
Algodoeiros vivos.	244	5-7-936	6-10-936	93	278	19,13
Só gaiola	180	5-7-936	5-10-936	92	109	19,04

Em determinadas épocas examinaram-se as gaiolas, notando-se que a emersão dos adultos occorria normalmente, apezar das plantas se terem tornado inteiramente seccas. Todas as gaiolas continham brócas vivas, não havendo indicações de hibernação, uma vez que os insectos reagiam immediatamente, quando tocados. Apezar das condições de temperatura e falta de alimento verde, que poderiam provocar a hibernação, não houve nenhuma indicação disso, mesmo na gaiola cuja protecção era minima. Centenas de outros adultos, mantidos, durante o inverno, com agua e alimento, não mostraram nenhuma tendencia á hibernação, o que nos leva a crer que não se verifica verdadeira hibernação nas condições do Estado de São Paulo. Com relação á longevidade da sobrevivencia, no inverno, constatámos que a gaiola contendo plantas verdes forneceu a mais alta porcentagem de brócas vivas por planta, provando que onde o alimento é proprio ha maior

porcentagem de sobrevivencia, o que provavelmente acontece nos campos onde a maioria das plantas não são arrancadas antes de 1.º de Julho, sendo deixadas até seccarem. A elevada porcentagem de brócas vivas obtidas na gaiola contendo capim e folhas seccas mostrou que a maioria das brócas é capaz de passar approximadamente dois mezes alimentando-se da casca secca dos algodoeiros, quando encontram sufficiente protecção. Na terceira gaiola, onde não existia nenhuma protecção nem alimento, o numero de brócas vivas foi comparativamente alto. As observações desta gaiola provaram que certa porcentagem de brócas é capaz de sobreviver, mesmo em pessimas condições, por um prazo approximado de dois mezes, quando sómente encontram caules de algodão seccos para protecção. Os resultados dessa experiencia preliminar induzem á consideração de que a bróca é capaz de sobreviver mesmo em condições desfavoraveis quanto a alimento e protecção. Experiencias posteriores nas quaes se utilizar maior numero de individuos, sujeitos ás mais variadas condições, ajudarão a definir o valor das medidas prophylacticas e seus effeitos na reducção de infestações.

CYCLO DA VIDA E HABITOS

METHODOS E TECHNICA

Desde que nenhum trabalho foi feito anteriormente sobre a biologia detalhada do *Gasterocercodes brasiliensis,* tornou-se necessario, no decorrer do primeiro anno de estudos, determinar os methodos pelos quaes o insecto pudesse ser manejado satisfactoriamente em captiveiro. Por falta de certos detalhes referentes aos habitos da oviposição, da maneira mais adequada de se fazerem observações quando estes estudos foram iniciados, os dados mencionados quanto ás brócas que atravessam o inverno, estão incompletos. Os estudos sobre a biologia do insecto continuam e, segundo o estabelecido, em outra occasião serão divulgadas observações mais completas.

Os adultos foram reunidos em grupos de 6 a 20 individuos, de accordo com as idades, em placas de PETRI communs de 2×10 cms. contendo areia esterilizada, consistindo o alimento de pedaços de hastes e folhas de algodoeiros. Quando observados em copula, os casaes foram isolados, numerados e collocados em placas de PETRI de 2×8 cms. Tambem esses foram alimentados com pedaços de hastes e folhas de algodoeiro, os quaes eram renovados diariamente; os caules removidos foram devidamente etiquetados e examinados, afim de determinar o numero de ovos depositados por femea, em cada periodo de 24 horas. Os ovos pódem ser promptamente localizados com o auxilio

de um fino escalpel, de dissecção para levantar a epiderme e partes do cambio, onde são depositados pela femea. Para evitar perdas ou possivel destruição por dissecção, permittiu-se que os ovos incubassem nos pequenos pedaços de caules de algodoeiros, os quaes foram protegidos, contra a secca, em vidros de lampeão (estampa 8, fig. *D*). Esses caules foram posteriormente examinados e as larvas, retiradas e contadas. Ao passo que as larvas nasciam, eram transferidas para algodoeiros sãos, geralmente tres ou quatro para uma planta. Tambem foram criadas larvas isoladamente, em caules de algodoeiros isolados, collocados em tubos de vidro tapados nas duas extremidades com algodão, ou em plantas em vaso.

As larvas recemnascidas pódem ser facilmente transferidas para novos hospedeiros. Isso foi conseguido fazendo-se uma pequena galeria perfurando a epiderme até o cambio, com uma agulha de ponta bem afilada, e transferindo a larva com um pincel de pello de camello. Depois da larva ter penetrado nessa galeria artificial, um pedaço de casca retirada de uma outra planta foi adaptado sobre o orificio feito, e ahi amarrado firmemente com barbante. O tempo em que se completou a alimentação e o da formação da cellula prepupal foi facilmente determinado. Para observar a transformação em pupa, a transformação em adulto e a sahida deste, foi preciso dissecar as plantas e fazer observações diarias quanto á actividade do insecto. Em vista dessas observações, até que a época da transformação em pupa se approxime, a larva póde ser prejudicada, ou então sua planta hospedeira ficar de tal forma destruida, que seja necessario trocal-a outra vez. Tal difficuldade foi evitada tanto quanto possivel. Para que as observações diarias fossem facilitadas, as larvas completamente desenvolvidas e prepupas foram transferidas para cellulas artificiaes feitas em caules de algodoeiros rachados ao meio, em cada metade dos quaes se fez uma cavidade. Depois de collocar uma larva numa cavidade, a outra metade do caule era ajustada de modo que as cavidades coincidissem, sendo conservadas assim por meio de elasticos. Esses pedaços contendo larvas, prepupas ou nymphas foram collocados em tubos cylindricos de vidro, para prevenir a evaporação.

Os estudos da biologia foram feitos num insectario (estampa 7, figs. *A* e *B*) tendo sido incluidos todos os estadios do insecto, excepto uma parte do periodo larval, em que as larvas foram alimentadas com algodoeiros plantados em canteiros, perto do insectario. Em vista dos canteiros estarem situados em local sombrio, as condições de temperatura foram praticamente iguaes ás do insectario.

LONGEVIDADE DAS BRÓCAS ADULTAS NO INSECTARIO

Dos estudos do insectario e observações feitos no campo durante 1935-1936, ficou definitivamente esclarecido que as brócas adultas estão presentes nos campos de algodão durante o anno inteiro, isto é, novas gerações de adultos apparecem em Novembro e Dezembro muito antes que as brócas que atravessaram o inverno tenham morrido. Em 1936 a ultima das brócas que atravessaram o inverno, colhidas em Julho e Agosto da cultura anterior, morreu em Maio.

Femeas da primeira geração, fecundadas e conservadas para os registros de oviposição, viveram em média 200,4 dias, sendo o maximo 377 dias (Tabellas 2 e 5). A maior longevidade constatada pertence a um macho da primeira geração de 1936, que viveu por 509 dias. Depois de copular, em 27 de Fevereiro, com uma femea da mesma geração, a qual depositou somente 26 ovos e morreu em 24 de Abril,

TABELLA 2

Resumo dos registros de longevidade das brócas femeas da primeira geração, no insectario, durante 1936, em Campinas

Mez em que foram apanhadas	N.º de brócas observadas	N.º de brócas vivas em —												
		Jan. 31	Fev. 29	Mar. 31	Abril 30	Maio 31	Junho 30	Julho 31*	Agos. 31	Set. 30	Out. 31	Nov. 30	Dez. 31	Jan. 31-937
Janeiro	77	70	60	54	51	50	45	34	20	15	11	8	4	0
Fevereiro.	18	—	16	13	11	11	11	9	3	3	0			
Março.	3	—	—	3	2	2	2	2	1	1	1	1	0	
Abril	2	—	—	—	2	2	2	2	0					

este macho viveu até 9 de Julho de 1937. Os machos vivem na maioria dos casos, mais tempo do que as femeas. Uma femea da segunda geração viveu 286 dias. A longevidade média para esta geração foi de 199,2 dias, ou seja pouco menos de um dia, em comparação com os da primeira geração. Os dados referentes á longevidade das femeas da segunda geração, criadas no insectario, estão resumidos nas tabellas 3 e 6.

* Em 6 de Julho a metade das brócas vivas passou a ser alimentada com folhas.

TABELLA 3

Resumo dos registros de longevidade das brócas femeas da segunda geração, no insectario, durante 1936, em Campinas

Mez em que foram apanhadas	N.o de brócas observadas	Numero de brócas vivas em —										
		Abril 30	Maio 31	Junho 30	Julho 31*	Agos. 31	Set. 30	Out. 31	Nov. 30	Dez. 31	Jan. 31-937	Fev.28-937
Abril	3	3	3	3	3	1	1	1	0			
Maio	17	—	17	16	14	9	9	6	4	2	1	0
Junho	6	—	—	6	4	2	2	2	2	1	0	

LONGEVIDADE DAS BRÓCAS ADULTAS SOB CONDIÇÕES ANORMAES

Para avaliar a longevidade das brócas do algodoeiro sob determinadas condições anormaes, certo numero de adultos foram postos: 1) em placas de Petri e pequenas gaiolas de arame, sem alimento nem agua; 2) em vasos com terra meio humida; 3) em vasos com terra contendo folhas seccas e frequentemente humedecidas; 4) em placas de Petri providas com agua; 5) em gaiolas contendo pequenas plantas de *Sida rhombifolia;* 6) em gaiolas contendo estacas de *Hibiscus rosa-sinensis;* 7) em gaiolas contendo mudas de *Chorisea speciosa,* e 8) em vasos de vidro contendo folhas de algodão. Os resultados dessas experiencias estão expressos na tabella 4. Nas observações sobre a longevidade das brócas sob condições nas quaes foram providas com agua, de uma ou de outra maneira, constatou-se que a humidade é indispensavel á vida do insecto, já como alimento, já como elemento ca-

TABELLA 4

Longevidade das brócas adultas do algodoeiro suppridas com diversas especies de alimento, com e sem agua, Campinas, 1936

N.o do lote	Condições em que foram guardados	Adultos em experiencia	Numero de adultos vivos depois de																
			7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	35 dias	42 dias	49 dias	56 dias	63 dias	70 dias	77 dias	84 dias	91 dias	98 dias	138 dias	154 dias	224 dias
1	Sem agua nem alimento	51	7	0															
2	Terra meio secca .	25	25	20	11	3	0												
3	Terra humida . .	25	25	25	9	2	1	0											
4	Com agua somente	50	50	49	38	17	11	5	2	1	0								
5	Sida rhombifolia .	25	25	22	19	13	9	3	2	2	0								
6	Hibiscus rosa-sinensis	10	10	10	6	6	6	4	1	1	1	1	1	0					
7	Chorisea speciosa .	10	—	—	—	10	7	4	4	4	2	2	0						
8	Algodoeiro-folhas .	44	43	39	35	29	29	27	25	24	20	18	16	13	12	11	6	3	0

* Em 6 de Julho a metade das brócas vivas passou a ser alimentada com folhas.

paz de manter optimas as condições de humidade. Sem agua nem alimento todas as brócas morreram dentro de 12 dias. Com agua sómente a maioria, isto é, 68 %, morreu em 36 dias, estando todas mortas depois de 56 dias, excepto uma, que viveu 60 dias. O maximo de longividade de brócas que se alimentaram de *Sida rhombifolia, Hibiscus rosa-sinensis* e *Chorisea speciosa* foi praticamente igual demonstrando que estas plantas, uma das quaes pertence, como o algodão, á tribu Hibiscini, tem um valor alimenticio relativo, não muito superior ao da agua sómente. Uma bróca alimentada de paineira commum, *Chorisea speciosa,* viveu 76 dias, emquanto uma outra, tendo como alimento o *Hibiscus rosa-sinensis,* viveu 78 dias. Das 44 brócas que se alimentaram de folhas de algodoeiros desde o seu nascimento, 50 % morreram no fim de oito semanas, e mais 25 % depois de dezeseis semanas e uma bróca morreu depois de ter vivido 224 dias.

COPULA

A copula geralmente se processa no segundo ou terceiro dia depois que os adultos emergem das suas cellulas pupaes, isto é, quando têm cerca de dez dias de idade. Conquanto uma copula seja sufficiente para assegurar a fertilidade da femea durante toda a sua vida, ella póde ser repetida diversas vezes. Os machos são muito activos e muitas vezes pódem ser vistos cavalgando femeas antes da copula. O acto da copula geralmente occorre á tarde ou durante a noite, podendo prolongar-se por quatro horas. Sob as condições do insectario a copula foi observada frequentemente durante o dia, quando as brócas estavam protegidas contra a claridade. Acredita-se, contudo, que, sob as condições normaes no campo, a copula occorra quasi exclusivamente depois do escurecer.

PREOVIPOSIÇÃO

O periodo de preoviposição, isto é, da copula até o primeiro ovo, baseado em noventa verificações de femeas da primeira geração, varia de 1 a 23 dias, sendo a média de 5,51 dias. As femeas da segunda geração forneceram essa média acrescida de um dia, ou seja 6,54 dias. As observações desta geração basearam-se em 29 femeas criadas no insectario.

As femeas alimentaram-se indifferentemente, durante o periodo da preoviposição, de folhas e caules, porém mostraram alguma preferencia pelos ultimos. Desde que as femeas da primeira e segunda geração foram conservadas exactamente sob as mesmas condições e suppridas com as mesmas especies de alimentos, não sabemos como explicar por que o periodo de preoviposição da segunda geração deu uma média maior do que o da primeira. O intervallo entre o appa-

recimento da bróca adulta e a postura do primeiro ovo, para ambas as gerações, forneceu uma média ligeiramente superior a 6 dias.

Tabella 5

Vida das femeas adultas da primeira geração, periodo de oviposição e numero de ovos no insectario, Campinas, 1936.

N.º do individuo	Data da transformação em adulto	Data da copula	Data do 1.º ovo	Dias de vida adulto	Periodo de oviposição	Ovos depositados
3A	20-XII-35	11-I-36	2-II-36	126	77	99
2B	8-I-36	11-I-36	25-I-36	356	208	26
5B	8-I-36	16-I-36	29-I-36	288	242	195
6B	8-I-36	17-I-36	1-II-36	363	326	360
2C	8-I-36	25-I-36	27-I-36	201	151	295
2D	14-I-36	21-I-36	5-II-36	206	159	76
3D	14-I-36	21-I-36	28-I-36	59	40	57
4D	14-I-36	21-I-36	27-I-36	282	265	288
5D	14-I-36	23-I-36	26-I-36	186	157	284
9D	14-I-36	31-I-36	6-II-36	206	167	167
1E	9-I-36	14-I-36	23-I-36	41	20	17
3E	9-I-36	30-I-36	1-II-36	272	211	283
4E	11-I-36	3-II-36	3-II-36	280	244	189
3F	11-I-36	31-I-36	1-II-36	363	121	137
4F	11-I-36	31-I-36	1-II-36	377	166	32
5F	10-I-36	20-II-36	22-II-36	227	152	265
2H	5-I-36	15-I-36	29-I-36	262	159	116
3H	5-I-36	17-I-36	22-I-36	50	33	65
3I	10-I-36	21-I-36	6-II-36	152	123	256
4I	10-I-36	21-I-36	25-I-36	209	140	186
5I	10-I-36	24-I-36	27-I-36	164	133	184
2K	9-I-36	24-I-36	27-I-36	68	46	132
3K	9-I-36	28-I-36	28-I-36	298	254	272
1L	8-I-36	15-I-36	27-I-36	361	338	189
2L	8-I-36	16-I-36	15-II-36	54	1	1
4L	8-I-36	21-I-36	23-I-36	313	270	330
5M	13-I-36	30-I-36	31-1-36	231	152	222
7M	13-I-36	4-II-36	4-II-36	38	1	3
8M	13-I-36	11-II-36	15-II-36	205	145	181
2Q	18-I-36	30-I-36	31-I-36	59	42	55
4Q	18-I-36	31-I-36	1-II-36	34	18	19
5Q	18-I-36	4-II-36	6-II-36	181	147	187
1R	16-II-36	24-II-36	29-II-36	148	100	155
1T	10-II-36	22-II-36	23-II-36	255	227	143
2U	21-I-36	30-I-36	4-II-36	273	242	270
2V	1-II-36	14-II-36	18-II-36	262	232	228
4V	1-II-36	16-II-36	21-II-36	64	32	21
5V	1-II-36	10-IV-36	11-IV-36	187	99	163
7X	25-I-36	13-II-36	13-II-36	198	169	120
1W	25-II-36	8-III-36	21-III-36	291	249	231
1Z	1-I-36	8-I-36	12-I-36	267	221	239
2Z	1-I-36	9-I-36	19-II-36	316	236	100
3Z	1-I-36	9-I-36	14-I-36	151	118	156
4Z	1-I-36	9-I-36	1-II-36	151	78	77
5Z	1-I-36	9-I-36	28-I-36	28	1	1
6Z	1-I-36	9-I-36	17-I-36	53	32	108
8Z	1-I-36	9-I-36	12-I-36	325	201	220
9Z	1-I-36	10-I-36	16-I-36	185	26	20
12Z	1-I-36	13-I-36	19-I-36	157	125	269
		Media geral . . .		200,4	144,8	156,9

TABELLA 6

Vida das femeas adultas da segunda geração, periodo de oviposição e numero de ovos no insectario, Campinas 1936

N.º do individuo	Data da transformação em adulto	Data da copula	Data do 1.º ovo	Dias de vida adulto	Periodo de oviposição	Ovos depositados
22	26-III-36	20-IV-36	21-IV-36	225	197	158
13	6-IV-36	27-IV-36	2-V-36	144	113	189
14	17-IV-36	7-V-36	9-V-36	184	156	204
44	17-IV-36	8-V-36	17-V-36	189	144	84
15	29-IV-36	18-V-36	26-V-36	45	12	22
35	29-IV-36	18-V-36	20-V-36	286	266	220
45	29-IV-36	24-V-36	1-VI-36	266	226	327
16	12-V-36	22-V-36	28-V-36	197	165	215
26	12-V-36	25-V-36	2-VI-36	228	205	190
46	12-V-36	26-V-36	4-VI-36	184	158	73
66	12-V-36	29-V-36	3-VI-36	226	203	185
76	12-V-36	30-V-36	31-V-36	163	127	133
96	12-V-36	16-VI-36	23-VI-36	238	190	182
37	26-V-36	8-VI-36	21-VI-36	214	184	157
		Media geral		199,2	167,5	167,07

OVIPOSIÇÃO

A postura começa logo depois que a femea adulta tenha despendido alguns dias alimentando-se das plantinhas novas. Os ovos são depositados isoladamente, em pequenas cavidades de diversas profundidades, sob a superficie do caule. Antes da deposição do ovo a femea faz, com as mandibulas, uma cavidade adequada entre as fibras da planta. Depois do ovo ser ajustado ao lugar, a femea geralmente tampa a abertura com uma massa e desse modo o ovo fica completamente escondido e protegido contra a secca. Na apparencia externa as picadas para oviposição assemelham-se ás picadas feitas emquanto se alimentam; têm, porém, geralmente, uma forma differente, a qual é ligeiramente hemispherica (estampa 9, fig. *E, a)*. Debaixo da casca as duas pódem ser facilmente distinguidas: as picadas de alimentação são furos verticaes e mais ou menos arredondados; os que receberão os ovos são mais profundos e inclinados desde a abertura.

Até agora só nos foi possivel determinar que a postura sómente occorre durante a noite. Os insectos são tão timidos que não foi possivel ainda observal-os nem ao fazer as picadas para a postura nem

ao depositar os ovos. Numerosas tentativas têm sido feitas com o auxilio de uma lanterna, para assistir á postura, no escuro; porém ordinariamente a luz incommoda os insectos e elles muitas vezes deixam-se ficar quietos ou escondem-se rapidamente para evital-a. As femeas preferem pôr os ovos nas porções mais inferiores da haste, porque as condições de humidade do solo auxiliam grandemente a oviposição. A' medida que a estação vae passando e os algodoeiros se vão tornando muito atacados e improprios para a deposição dos ovos perto do solo, os insectos dirigem suas actividades para as partes aereas, continuando a pôr nas hastes e, ás vezes, nas maçãs, do mesmo modo que anteriormente.

EFFEITOS DA ALIMENTAÇÃO NA OVIPOSIÇÃO

Numa experiencia para provar si a postura poderia ser recomeçada depois de eliminadas todas as possibilidades favoraveis á oviposição, verificou-se que a qualidade do alimento exerce uma grande influencia na postura, especialmente depois da colheita. A 22 femeas da primeira geração, alimentadas durante toda a cultura com folhas e caules de algodoeiros e que estavam pondo, foram dadas, do dia 8 de Julho em diante, sómente folhas verdes. Cinco dias depois, 50 % das brócas estavam mortas, 3 viveram mais de 31 dias e uma viveu 54 dias. Varios ovos foram encontrados nas placas de Petri, onde as femeas estavam prezas, porém, depois de 4 ou 5 dias, a oviposição cessou inteiramente.

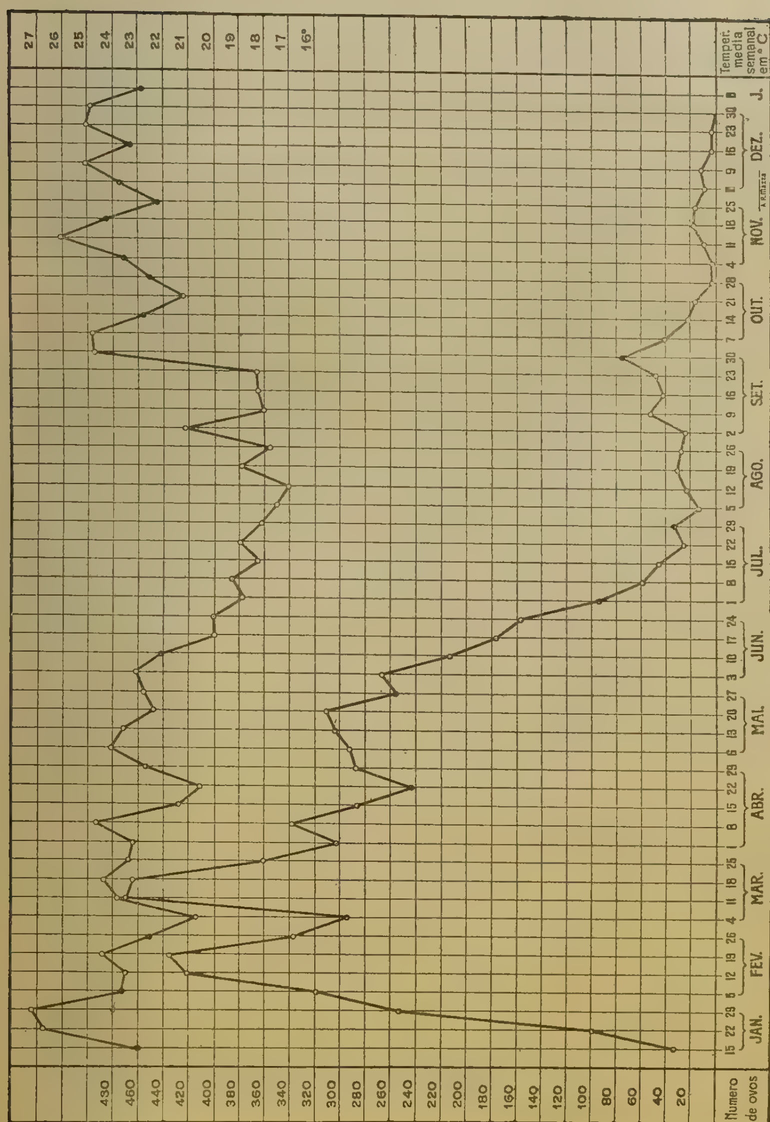
Doze femeas da segunda geração foram conservadas em identicas condições desde o dia 8 de Julho. Destas, 4 morreram no fim da primeira semana e depois de 31 dias todas tinham morrido, excepto uma, que viveu 126 dias. Esta femea foi collocada em uma manga (vidro de lampeão) contendo plantas novas, no dia 26 de Outubro, tendo a postura recomeçado em 31 do mesmo mez. Após depositar 9 ovos no espaço de 10 dias, morreu no dia 12 de Novembro. Em uma outra experiencia, 31 femeas da primeira geração foram alimentadas com hastes e folhas de algodoeiro, havendo a postura occorrido normalmente durante os mezes de inverno, variando, naturalmente, com a temperatura. Essas brócas viveram muito mais tempo, em média, do que as que se alimentaram de folhas sómente e que não procederam a postura. Metade dellas viveu além de tres mezes e 10 femeas continuaram a deposição dos ovos durante o mez de Outubro. Das 13 femeas, bem activas quando transferidas para plantas novas em 26 de Outubro, 2 que estavam pondo até essa data pararam até 1 e 4 de Novembro, continuando, a seguir, a postura, até 25 de Novembro e 23 de Dezembro, respectivamente, depositando uma média de 30 ovos cada uma, nas plantas novas.

Oito femeas da segunda geração, igualmente alimentadas com hastes e folhas de algodoeiro durante os mezes de inverno, tambem continuaram a postura até 26 de Outubro, data em que foram transferidas para plantas novas. Em 2 de Novembro a postura foi recomeçada e a oviposição continuou sem interrupção até 6 de Fevereiro, morrendo a ultima femea em 9 de Fevereiro de 1937.

EFFEITOS DA TEMPERATURA E HUMIDADE NA OVIPOSIÇÃO

A temperatura é indubitavelmente o principal factor que controla a oviposição. As femeas da primeira geração iniciaram a postura no insectario, no dia 12 de Janeiro, continuando até 29 de Dezembro. A maior postura verificada foi em 15 de Fevereiro e a immediatamente mais baixa foi constatada em 19 de Março. O numero total de ovos postos semanalmente pelas femeas da primeira geração e a média semanal das temperaturas para os periodos correspondentes estão expressos no graphico 1. Como se indica pelos graphicos 1 e 2, existe uma relação intima e directa entre a temperatura e a postura durante quasi todo o periodo da oviposição. Isso foi notado especialmente quando a postura diminuiu de um total de 435 ovos, durante o periodo de 16 a 22 de Fevereiro (temperatura média semanal 24,41° C.), para 294 ovos durante a semana 1 a 7 de Março, quando a temperatura média semanal foi 20,74° C. Em outras vezes, durante os prazos de 29 de Março a 4 de Abril e 19 a 25 de Abril, houve uma consideravel diminuição nas temperaturas médias semanaes, acompanhadas da correspondente diminuição da postura. Durante o mez de Maio a oviposição manteve-se constante, principiando a declinar muito bruscamente depois da primeira semana de Junho, tempo em que a colheita do algodão terminava e a temperatura diminuia a menos de 22° C. A oviposição das femeas da primeira geração foi muito irregular durante o inverno, deixando de pôr 6 dias, devido ás baixas temperaturas. A influencia que a temperatura exerce na oviposição é praticamente igual, tanto na primeira como na segunda geração, conforme se exclarece no graphico 2. Na segunda, porém, parece que a humidade relativa teve um effeito, de certo modo, estimulante, na postura, especialmente durante os mezes de Julho e Agosto. Que a influencia da humidade relativa seja mais pronunciada na segunda geração é razoavel, em virtude da maioria dos ovos da primeira geração terem sido postos antes de Julho e as variações climaticas não poderem, naturalmente determinar, tão visivelmente, nenhum augmento ou diminuição na oviposição.

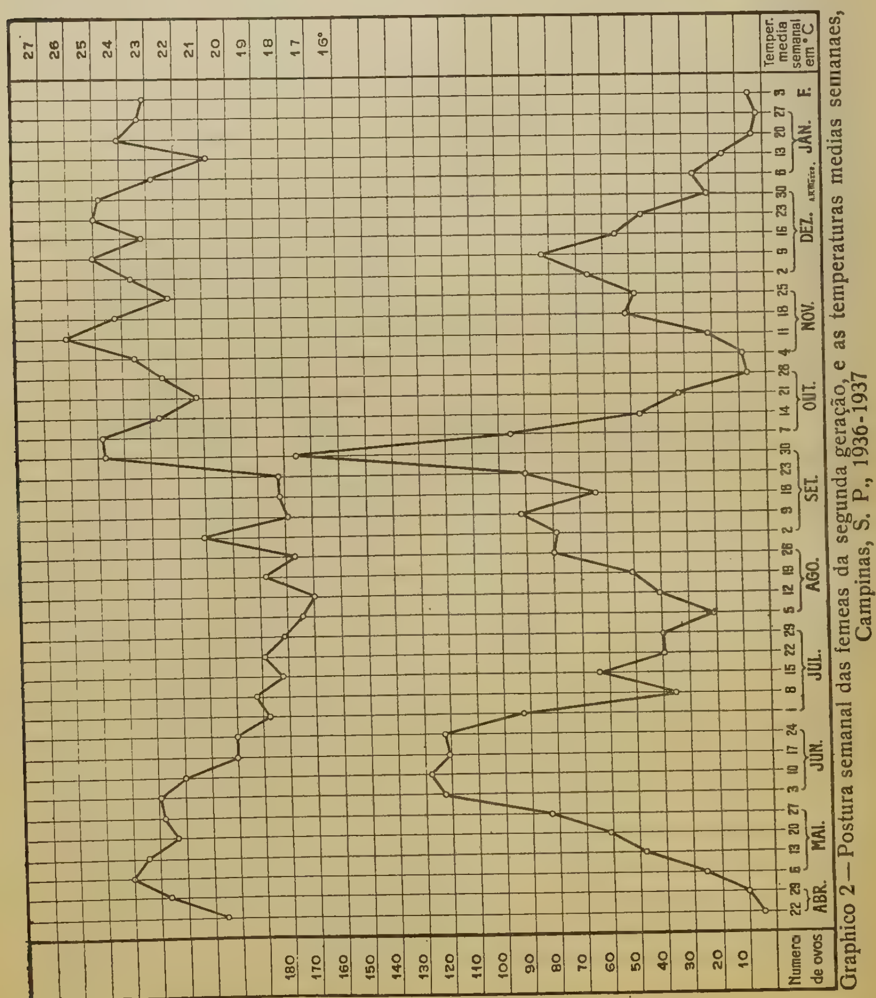
Durante a semana de 8 a 15 de Julho a temperatura média baixou, havendo um augmento, na humidade relativa, de 65,04 % a



Graphico 1 — Postura semanal das femeas da primeira geração e as temperaturas medias semanaes, Campinas, S. P., 1936

75,85 %, tendo sido o numero total de ovos, ahi, maior dos depositados na semana anterior. Uma outra vez, em 19 a 26 de Agosto, occorreu circunstancia quasi identica e, com excepção de alguns dias, houve um ligeiro augmento de postura, mesmo quando a temperatura média

baixava. Durante esse tempo, o augmento semanal de humidade relativa foi constante de 65,00 % a 74,57 %, o que aliás se verificou desde o principio do mez. O augmento de postura emquanto a temperatura diminue poderá indicar que a porcentagem de humidade relativa accu-



Graphico 2 — Postura semanal das femeas da segunda geração, e as temperaturas medias semanaes, Campinas, S. P., 1936-1937

mulada influe directamente nella. No entanto, sómente depois de se considerarem, por diversos annos, observações sobre os effeitos dessa humidade na oviposição, é que se poderá, provavelmente, apresentar melhores dados para uma interpretação mais completa.

PERIODO DE OVIPOSIÇÃO

A duração do periodo de oviposição da bróca do algodoeiro póde, em parte, esclarecer por que esse insecto é capáz de contaminar 50 a 75 % das plantas dos novos algodoaes durante o seu desenvolvimento. O periodo da oviposição póde prolongar-se por todo o anno; porém a época de maior actividade se limita de meados de Novembro a Maio. Durante os mezes mais frios, Julho e Agosto, a oviposição praticamente se não realiza.

No inverno de 1936, contudo, diversas femeas da primeira geração, cujos dados não estão incluidos no graphico 1, continuaram a postura, com pequena interrupção, mesmo nos dias mais frios, quando a temperatura minima registrada no insectario foi 4,5° C, no dia 6 de Agosto. A duração do periodo de oviposição e o numero de ovos depositados por 49 femeas da primeira geração, no insectario, estão expressos na tabella 7. Sob as condiçõs do insectario, a média do tempo de postura foi 149,87 dias, tendo sido o maximo 338 dias, o que foi comprovado, em 1936, com 63 femeas das duas (primeira e segunda) gerações. Uma femea depositou, num prazo de 326 dias, 360 ovos. Na tabella 8 mostra-se o periodo de oviposição e o numero de ovos postos pelas 14 femeas da segunda geração, na mesma época.

A média 167,57 dias, do periodo de oviposição para a segunda geração, foi 22,76 dias mais extensa do que a da primeira geração. Essa differença não póde ser attribuida á longevidade das brócas, visto que as femeas de ambas gerações tiveram, praticamente, a mesma média de vida.

A postura das femeas da segunda geração começou em 22 de Abril. Até essa occasião as da primeira geração já tinham depositado pouco mais de 60 % do numero total dos ovos. A oviposição para essas femeas já se havia prolongado por 14 semanas e foi, nessa época, baixando com a approximação do inverno. As femeas da segunda geração augmentaram rapidamente a capacidade de postura até cerca de meados de Junho, quando a baixa de temperatura causou um sensivel decrescimo. Depois de 18,5 semanas, a contar do dia em que o primeiro ovo foi posto, 50 % do numero total de ovos das femeas da segunda geração já haviam sido depositados. Isso se verificou em fins de Agosto, quando a temperatura foi augmentando, tendo sido attingido o maximo das posturas por semana, em 30 de Setembro, para as femeas dessa geração. As femeas da primeira geração, que depositaram a maior quantidade de ovos em mais curto prazo, differem das da segunda, para as quaes a influencia das baixas temperaturas do inverno resultou num maior periodo de oviposição.

TABE

Ovos da segunda geração, postos em 1936, provenientes de 49 casaes de brócas da primeira oriundas das femeas que

Casal N.º	Data da Copula	Numero de ovos postos																								
		Jan. 12 a 25	Jan. 19 a 25	Jan. 26 a Fev. 1	Fev. 2 a 8	Fev. 9 a 15	Fev. 16 a 22	Fev. 23 a 29	Mar. 1 a 7	Mar. 8 a 14	Mar. 15 a 21	Mar. 22 a 28	Mar 29 a Abril 4	Abr. 5 a 11	Abr. 12 a 18	Abr. 19 a 25	Abr. 26 a Maio 2	Maio 3 a 9	Maio 10 a 16	Maio 17 a 23	Maio 24 a 30	Maio 31 a Junho 6	Junho 7 a 13	Junho 14 a 20	Junho 21 a 27	Junho 28 a Julho 4
3A	11-1	0	0	0	4	1	0	4	11	10	9	15	15	18	11	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2B	11-1	0	1	1	1	6	9	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3	0	0
5B	16-1	0	0	4	1	9	5	3	0	5	5	1	1	4	3	4	6	7	14	17	10	13	17	13	9	8
6B	17-1	0	0	1	7	3	3	8	11	20	18	18	12	6	6	10	10	15	13	11	10	15	14	12	10	4
2C	25-1	0	0	12	21	20	26	14	13	23	24	16	11	15	13	12	13	12	13	7	8	6	7	2	7	0
2D	21-1	0	0	0	1	13	16	11	11	13	5	0	0	0	0	0	0	3	1	1	0	0	0	0	0	0
3D	21-1	0	0	10	8	12	10	11	3	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4D	21-1	0	0	11	9	6	8	12	12	16	18	18	15	15	9	9	12	16	7	15	7	6	7	8	7	3
5D	23-1	0	0	7	15	6	8	8	13	15	22	17	20	11	16	12	15	20	12	14	13	12	9	9	8	2
9D	31-1	0	0	0	1	0	0	0	2	3	17	14	14	26	14	17	17	19	16	5	0	1	0	0	0	0
1E	14-1	0	4	3	8	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3E	30-1	0	0	2	6	12	11	19	8	16	18	11	14	15	13	8	12	14	15	18	13	15	14	10	7	4
4E	3-2	0	0	0	9	10	8	9	8	9	4	8	6	10	3	5	12	5	12	8	6	9	6	7	8	5
3F	31-1	0	0	10	13	22	22	11	12	22	19	3	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
4F	31-1	0	0	2	9	10	0	2	0	0	2	0	0	1	0	2	1	0	0	0	0	0	2	0	0	0
5F	20-2	0	0	0	0	0	2	14	14	23	23	17	18	22	19	13	13	3	12	10	16	10	10	9	7	5
2H	15-1	0	0	1	4	0	0	0	1	9	15	4	5	6	7	6	8	3	5	4	6	8	8	5	7	2
3H	17-1	0	12	13	9	18	12	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3I	21-1	0	0	0	4	23	30	22	14	23	25	17	11	11	7	11	9	8	15	14	7	3	2	—	—	—
4I	21-1	0	2	8	12	12	10	13	10	16	9	6	3	7	8	7	4	4	8	13	11	7	16	0	0	0
5I	24-1	0	0	25	13	16	18	15	9	6	12	11	11	10	6	8	5	8	2	0	2	4	3	0	0	—
2K	24-1	0	0	22	8	27	23	18	20	14	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3K	28-1	0	0	12	8	23	25	16	8	14	9	3	7	11	10	8	10	4	7	12	3	15	5	3	7	6
1L	15-1	0	0	8	3	1	4	4	3	13	22	19	12	12	9	9	9	13	12	11	6	5	1	0	1	0
2L	16-1	0	0	0	0	1	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

(*) No dia 26-10-936 as brócas passaram a ser alimentadas com mudinhas de algodão.

LLA 7

geração, que foram criadas de nymphas colhidas no campo, de Novembro a Fevereiro, atravessaram o inverno, em Campinas

durante a semana de —

Julho 5 a 11	Julho 12 a 18	Julho 19 a 25	Julho 26 a Agos. 1	Agos. 2 a 8	Agos. 9 a 15	Agos. 16 a 22	Agos 23 a 29	Agos. 30 a Set. 5	Set. 6 a 12	Set. 13 a 19	Set. 20 a 26	Set. 27 a Out. 3	Out. 4 a 10	Out. 11 a 17	Out. 18 a 24	Out. 25 a 31 (*)	Nov. 1 a 7	Nov. 8 a 14	Nov. 15 a 21	Nov. 22 a 28	Nov. 29 a Dez. 5	Dez. 6 a 12	Dez. 13 a 19	Dez. 20 a 26	Dez. 27 a Jan. 2	Jan. 3 a 9	Jan. 10 a 16	Jan. 17 a 23
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—
3	7	2	4	2	4	1	1	2	3	4	0	1	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	5	1	6	2	2	5	4	4	10	4	9	9	9	6	5	0	1	6	6	10	6	9	2	2	0	0	—	—
0	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0	1	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1	2	1	3	4	1	1	2	4	5	6	5	2	1	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0	0	1	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	3	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	0	0	0	0	0	1	0	1	4	3	4	5	1	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—
0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—
3	1	1	0	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0	0	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	3	0	2	0	3	1	3	3	3	5	6	8	5	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	3	1	1	1	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

(Continúa)

Casal N.o	Data da Copula	Numero de ovos postos																								
		Jan. 12 a 18	Jan. 19 a 25	Jan. 26 a Fev. 1	Fev. 2 a 8	Fev. 9 a 15	Fev. 16 a 22	Fev. 23 a 29	Mar. 1 a 7	Mar. 8 a 14	Mar. 15 a 21	Mar. 22 a 28	Mar. 29 a Abril 4	Abr. 5 a 11	Abr. 12 a 18	Abr. 19 a 25	Abr. 26 a Maio 2	Maio 3 a 9	Maio 10 a 16	Maio 17 a 23	Maio 24 a 30	Maio 31 a Junho 6	Junho 7 a 13	Junho 14 a 20	Junho 21 a 27	Junho 28 a Julho 4
4L	21-1	0	2	8	7	6	24	12	11	8	5	18	16	20	16	15	17	19	15	11	10	13	13	11	3	6
5M	30-1	0	0	7	20	7	19	17	10	19	21	10	15	8	4	6	6	3	4	4	7	9	7	13	8	5
7M	4-2	0	0	0	3	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8M	11-2	0	0	0	0	1	0	0	3	15	19	17	10	5	10	10	8	6	12	12	16	12	10	7	7	1
2Q	30-1	0	0	4	3	16	8	8	9	8	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4Q	31-1	0	0	1	5	7	6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5Q	4-2	0	0	0	4	1	13	7	9	20	15	16	12	11	8	7	10	12	6	10	7	7	7	3	1	1
1R	24-2	0	0	0	0	0	0	2	3	13	15	15	10	13	13	8	10	11	11	14	11	4	2	0	0	0
1T	22-2	0	0	0	0	0	0	7	5	13	11	5	6	7	2	0	4	3	4	7	5	5	6	6	6	6
2U	30-1	0	0	0	13	10	11	6	2	13	12	5	7	7	11	5	12	16	13	21	9	14	10	13	9	5
2V	14-2	0	0	0	0	0	4	14	11	16	18	10	13	14	13	9	12	16	13	6	11	10	4	5	6	4
4V	16-2	0	0	0	0	0	5	5	0	6	3	2	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5V	10-4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	11	10	16	17	22	16	20	11	7	8	7	7
7X	13-2	0	0	0	0	2	2	2	8	0	1	6	1	0	4	4	8	8	6	12	12	10	8	6	5	4
1W	8-3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	5	4	1	1	1	0	2	8	14	12	16	8	11	7	7
1Z	8-1	7	19	23	11	19	24	11	11	16	18	12	13	9	11	7	5	8	6	4	1	0	1	0	2	0
2Z	9-1	0	0	0	0	0	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2	15	2	11	13	7
3Z	9-1	9	13	2	15	18	18	6	3	10	13	14	7	13	9	0	4	0	2	0	0	—	—	—	—	—
4Z	9-1	0	0	1	1	0	5	5	11	21	14	10	2	2	2	2	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—
5Z	9-1	0	0	1	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
6Z	9-1	5	23	28	17	24	11	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8Z	9-1	9	3	13	10	23	21	4	2	1	5	3	6	10	9	9	9	10	13	12	14	11	5	2	5	3
9Z	10-1	3	2	0	12	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12Z	13-1	0	18	12	24	28	31	14	13	18	17	15	17	16	8	8	11	8	5	6	0	0	—	—	—	—
TOTAL . .		33	99	252	319	421	455	338	294	470	465	361	314	338	287	243	288	293	305	312	256	267	213	177	157	95

(*) No dia 26-10-936 as brócas passaram a ser alimentadas com mudinhas de algodão.

durante a semana de —

Julho 5 a 11	Julho 12 a 18	Julho 19 a 25	Julho 26 a Agos. 1	Agos. 2 a 8	Agos. 9 a 15	Agos. 16 a 22	Agos. 23 a 29	Agos. 30 a Set. 5	Set. 6 a 12	Set. 13 a 19	Set. 20 a 26	Set. 27 a Out. 3	Out. 4 a 10	Out. 11 a 17	Out. 18 a 24	Out 25 a 31 (*)	Nov. 1 a 7	Nov. 8 a 14	Nov. 15 a 21	Nov. 22 a 28	Nov. 29 a Dez. 5	Dez. 6 a 12	Dez. 13 a 19	Dez. 20 a 26	Dez. 27 a Jan. 2	Jan. 3 a 9	Jan. 10 a 16	Jan. 17 a 23
6	1	5	0	2	2	0	1	1	0	0	1	10	5	4	2	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0	0	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	3	0	3	1	0	0	3	5	3	5	2	2	2	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	0	1	7	0	3	4	6	3	6	4	2	6	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	4	1	1	0	2	0	1	0	0	1	1	3	1	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	2	3	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	5	2	2	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	3	4	1	1	2	5	7	1	12	8	13	22	13	8	7	1	1	3	11	5	0	0	—	—	—	—	—	—
0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	3	4	3	0	4	0	0	0	6	1	5	7	3	2	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	2	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
59	46	26	33	13	24	20	28	25	54	42	48	75	40	22	16	1	2	9	17	16	9	12	3	3	1	0	0	0

TABELLA 8

Ovos da terceira geração, postos em 1936-37, por 14 casaes de brócas da segunda geração, criados no insectario, de 26 de Abril de 1936, em Campinas

Casal N.o	Data da copula	Numero de ovos postos durante a semana de —																																									
		Abr. 19 a 25	Abr. 26 a Maio 2	Maio 3 a 9	Maio 10 a 16	Maio 17 a 23	Maio 24 a 30	Maio 31 a Junho 6	Junho 7 a 13	Junho 14 a 20	Junho 21 a 27	Junho 28 a Julho 4	Julho 5 a 11	Julho 12 a 18	Julho 19 a 25	Julho 26 a Agos. 1	Agos. 2 a 8	Agos. 9 a 15	Agos. 16 a 22	Agos. 23 a 29	Agos. 30 a Set. 5	Set 6 a 12	Set. 13 a 19	Set. 20 a 26	Set. 27 a Out. 3	Out. 4 a 10	Out. 11 a 17	Out. 18 a 24	Out. 25 a 31 (*)	Nov. 1 a 7	Nov. 8 a 14	Nov. 15 a 21	Nov. 22 a 28	Nov. 29 a Dez. 5	Dez. 6 a 12	Dez. 13 a 19	Dez. 20 a 26	Dez. 27 a Jan. 2	Jan. 3 a 9	Jan. 10 a 16	Jan. 17 a 23	Jan. 24 a 30	Jan. 31 a Fev. 6
22	20-4	4	9	13	13	14	14	10	9	8	6	4	5	5	0	2	0	0	0	0	3	6	0	8	11	11	4	0	0	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
13	27-4	0	1	13	18	21	20	14	23	14	12	10	6	16	15	1	2	1	0	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
14	7-5	0	0	0	17	17	19	13	15	14	13	9	7	6	4	5	0	7	7	8	5	5	6	2	14	9	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
44	8-5	0	0	0	0	4	3	1	6	5	2	6	3	6	3	2	0	0	1	7	2	6	4	8	6	9	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15	18-5	0	0	0	0	0	8	12	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
35	18-5	0	0	0	0	5	11	14	12	15	10	4	6	0	1	3	1	2	3	5	7	9	10	10	19	3	5	5	0	0	0	2	2	7	13	0	9	4	6	6	4	2	5
45	24-5	0	0	0	0	0	0	13	11	9	11	9	7	3	1	6	3	8	5	7	11	10	9	15	25	7	7	7	1	0	3	13	12	16	21	20	14	14	20	9	0	—	—
16	22-5	0	0	0	0	0	8	19	17	16	16	8	5	6	4	4	4	2	9	7	8	9	7	11	25	13	13	3	0	0	1	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
26	25-5	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	7	6	12	15	12	10	6	16	12	4	8	1	0	6	9	11	16	18	11	9	—	—	—	—	—	—
46	26-5	0	0	0	0	0	0	5	13	17	15	14	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	7	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
66	29-5	0	0	0	0	0	0	5	8	9	13	6	1	5	1	4	5	3	7	12	10	10	5	7	18	7	3	5	3	0	1	6	9	7	11	3	1	—	—	—	—	—	—
76	30-5	0	0	0	0	0	0	16	12	14	11	11	5	2	3	2	3	2	4	5	4	8	5	7	13	6	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
96	16-6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	4	4	5	5	4	2	6	4	6	6	9	3	8	11	13	8	1	0	1	9	18	9	9	10	13	9	3	—	—	—	—	—
37	8-6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	8	6	10	3	6	1	3	5	9	8	8	5	8	18	5	2	3	1	0	0	3	5	11	10	8	3	—	—	—	—	—	—
Total		4	10	26	48	61	83	123	128	121	123	93	56	64	40	40	21	41	51	80	79	92	64	90	176	95	47	32	7	9	21	51	48	66	83	55	45	21	26	15	4	2	5

(*) No dia 26-10-936 as brócas passaram a ser alimentadas com mudinhas de algodão.

FECUNDIDADE

A somma global da postura das femeas da primeira e segunda geração, no insectario, durante 1935 e 1936, foi em média de 159,17 ovos por femea. O numero total de ovos depositados por femea durante esse mesmo periodo variou enormemente desde 1 até 360. As femeas da segunda geração foram as que tiveram a mais alta média de fecundidade, isto é, 167,07, emquanto a média das da primeira geração foi 156,91 ovos. Isso foi devido, em grande parte, ao facto da segunda geração ter tido um periodo de oviposição mais extenso.

Em vista das femeas de ambas as gerações terem sido conservadas sob identicas condições e receberem o mesmo typo de alimento, a pequena variação que existe na fecundidade média das duas gerações não poderá ser explicada, neste caso, como occasionada pelos effeitos da alimentação dos insectos, na oviposição, como foi mencionado em outro ponto deste trabalho. Sob as condições naturaes, no campo, parece duvidoso que os resultados sejam semelhantes, porque o algodoeiro é muito menos favoravel á postura na época em que a maioria das femeas da segunda geração está com as suas actividades no grão mais elevado. Além disso, nos campos onde a colheita tenha terminado em Maio, pouca opportunidade existirá para a oviposição, depois que a maioria das plantas esteja eliminada. Nessas condições, as femeas poedeiras, ou são forçadas á migração, ou cessam definitivamente a postura, continuando no campo ou nas suas proximidades, onde lhes seja proporcionada protecção. A fecundidade média, especialmente para as femeas da segunda geração, será assim seriamente affectada.

POSTURA DIARIA

No insectario, foram depositados uma média de 1,06 ovos por dia, pelas femeas da bróca do algodoeiro, da primeira e segunda geração. Essa média foi proveniente dos registros da deposição de 10.028 ovos durante o periodo da cultura do algodão, em 1935-936. A média diaria mais elevada foi 3,37 ovos e a minima foi 0,12, para femeas da primeira geração. A ligeira diminuição na quantidade de ovos depositados diariamente pelas femeas da segunda geração foi devida, principalmente, ao effeito da temperatura, como se indica nos registros semanaes. As variações durante os mezes do inverno são menos intensas e, consequentemente, a quantidade dos ovos postos é mais uniforme. A média diaria mais elevada, de 3,37 ovos para uma femea da primeira geração, foi computada do registro dos ovos depositados

num prazo que se estendeu desde 17 de Janeiro a 18 de Fevereiro, quando as temperaturas médias, diarias, variaram desde 20,8° C até 29,6° C.

DURAÇÃO DO OVO

Os pequenos pedaços de caules de algodoeiro contendo ovos, postos em diversos dias, foram collocados em mangas (vidros de lampeão) para a incubação. Tres ou quatro dias depois da postura, dependendo da temperatura, e dias subsequentes, os ovos foram examinados, para determinar a data da eclosão. No exame dos ovos para estabelecer essa determinação, a epiderme do caule, em cima do ovo, era levantada com um pequeno escalpel, tendo-se o cuidado necessario para não modificar as condições naturaes mais do que o indispensavel.

Para 607 ovos nascidos no insectario, o tempo de incubação variou entre 5 e 18 dias, sendo a média de 10,69 dias para o periodo que vae de 12 de Janeiro a 10 de Agosto de 1936. Para determinar

TABELLA 9

Periodo da incubação dos ovos da bróca do algodoeiro, 1936

Temperatura ° C.	Duração em dias			N.° de ovos total
	Media	Minima	Maxima	
17,5	17	17	17	4
18	17	17	17	3
18,5	15,67	15	18	77
19	16	16	16	17
20	13	13	13	31
20,5	12,40	12	13	32
21	11,42	9	12	62
21,5	11,40	10	12	25
22	10,50	10	11	24
22,5	10,08	9	11	42
23	9,71	9	11	72
23,5	8.86	8	10	41
24	8,88	8	10	58
24,5	7,88	7	8	50
25	8	8	8	11
25,5	8	8	8	4
27,5	6	6	6	22
28	5,60	5	7	32
				607

a influencia da temperatura, calculou-se a média de temperatura para o periodo de incubação de cada grupo de ovos. Todos os grupos foram então classificados de accordo com a média de temperatura do periodo de incubação. Estes dados, incluindo os registros dos ovos das femeas da primeira e segunda geração, estão resumidos na tabella 9.

A influencia da temperatura média na duração do estado de ovo é bem clara e, pelos dados apresentados, conclue-se que o tempo necessario para a incubação diminue á medida que a temperatura augmenta. A variação mensal na duração do estado do ovo está expressa na tabella 10. Deve ser notado que todas essas observações foram feitas no insectario, tendo sido baseadas em registros obtidos depois que as femeas da primeira geração iniciaram a oviposição, durando até o fim da colheita do algodão. Como as condições dos algodoeiros, durante Julho e Agosto, são diversas, é muito duvidoso que se verifiquem, no campo, muitas posturas nessa occasião. As possibilidades

TABELLA 10
Resumo da variação mensal do periodo de incubação dos ovos da bróca do algodoeiro, 1936

Tempo de oviposição	Numero de ovos	Periodo de incubação (dias) Total	Periodo de incubação (dias) Media	Temperatura media °C.
Janeiro	69	426	6,17	27
Fevereiro	92	796	8,65	23,9
Março	67	645	9,62	22,4
Abril.	78	853	10,93	22
Maio	103	1.015	9,85	23,1
Junho	97	1.164	12,00	21
Julho	70	1.087	15,54	18,6
Agosto	31	507	16,35	18,4
	607	6.493	10,69	

para posturas são muito restrictas, uma vez que as plantas sejam removidas dos campos. Em vista disso, muito poucos registros foram obtidos no fim da cultura, parecendo-nos mais vantajoso saber si a oviposição poderia ser reiniciada depois das brócas serem obrigadas a um periodo de semirepouso.

HABITOS LARVAES

A larva recemnascida mede de 0,82 mm. a 0,98 mm. de comprimento, sendo a média 0,885 mm. A coloração do corpo varia do branco ao amarellado pallido; cabeça regularmente grande, fortemente chitini-

zada e uniformemente pardo pallido; porção frontal, incluindo as mandibulas e palpos, muito mais chitinizada, quasi preta nas extremidades. Sutura epicraneal distincta. Ocellos pretos.

Logo que a larva abandona o ovo começa a alimentar-se da casca, construindo uma pequena galeria que gradualmente se torna maior, á medida que ella passa de um para outro estadio. São muito activas depois do nascimento e immediatamente procuram esconder-se si a eclosão se deu fóra da cavidade natural onde o ovo foi depositado. Sem alimento ou temperatura conveniente, a jovem larva morre em muito pouco tempo. Não se alimentam fóra da planta, nem são capazes de passar de um para outro algodoeiro. Tornam-se muito espertas quando incommodadas, mordendo qualquer cousa que esteja ao seu alcance. Alimentam-se independentemente, nunca occorrendo reunirem-se na mesma planta hospedeira. Ao passo que os estadios, os quaes são no minimo em numero de cinco, se vão succedendo, o corpo torna-se mais desenvolvido e ligeiramente curvo. A' medida que a larva se alimenta, os excrementos são depositados dentro da galeria, não havendo nenhum caminho definido. Geralmente a sua alimentação se restringe ás porções mais baixas da planta, entre o caule e a raiz. Nas plantas novas, succulentas ainda, ou mais velhas, mas que ainda não se tornaram lenhosas, todo caule ou raiz pode servir de alimento. Commummente, depois da larva immatura gastar de duas a quatro semanas alimentando-se acima do ponto em que foi depositado o ovo, inverte a direcção e limita as suas actividades ao nivel mais baixo da raiz pivotante, onde o alimento, parece, é mais propicio. Num total de 347 plantas examinadas, verificou-se que as larvas se alimentavam, na raiz, em média, até 14 cms. abaixo da superficie do solo, sendo o maximo de 29 cms. Em 40 % das plantas as larvas se alimentaram a 14 ou mais cms. abaixo do nivel do chão (estampa 13, fig. *N*). E' obvio que a profundidade a que a infestação possa attingir dentro de qualquer planta variará de accordo com a propria planta, com o gráo de infestação e tambem com o typo de solo.

Quando cessam de se alimentar, as larvas adultas encontram-se proximo do meio da planta, onde, em vista de melhor protecção, podem mais seguramente completar os estadios de vida restantes.

Nas plantas novas a larva constróe uma cellula pupal, excavando uma cavidade oval proxima do fim da galeria. Essa cellula é forrada com excremento, que fica liso em virtude dos movimentos da larva, tornando-se finalmente duro e um tanto quebradiço. Nas plantas maiores a larva adulta prepara uma galeria de sahida, comendo o caule até a casca, voltando depois a um ponto proximo do centro da planta, para preparar a cellula pupal. Essa galeria, que é obstruida com

excremento, serve para proteger a forma immatura e, ao mesmo tempo, favorecer a sahida dos adultos quando attingem á maturidade.

Quando a cellula está prompta, a larva permanece em repouso por algum tempo, seu corpo fica mais curto e ligeiramente mais estreito e a região thoraxica torna-se mais desenvolvida.

PERIODO DE ALIMENTAÇÃO LARVAL

De 4 de Fevereiro a 10 de Julho de 1936 foram feitas observações sobre o estadio larval. As annotações tomadas durante esse periodo não incluem nem as primeiras nem as ultimas larvas criadas durante a cultura, porém os resultados, na maioria dos casos, fornecem uma bôa idéa do periodo larval, de accordo com as temperaturas registradas durante o periodo de desenvolvimento do algodão. Os methodos usados na obtenção dos dados sobre o periodo larval foram mencionados em outro lugar. No entanto, devem ser relembradas certas difficuldades que foram encontradas para manter as condições optimas durante todo o periodo de alimentação. Tanto os caules como os algodoeiros, em que foram transferidas, muitas vezes seccaram ou apodreceram e de tempo em tempo as larvas tinham que ser mudadas para outros. Esses factores foram possivelmente as principaes causas das inconstancias que se observaram nas larvas criadas durante esse prazo. Na maioria dos casos as plantas vivas, contendo diversas larvas, não foram perturbadas até que o tempo médio do estadio larval tivesse sido attingido. A duração da alimentação de 63 larvas variou de 29 a 88 dias, com uma média de 54,08 dias. Houve uma evidente

TABELLA 11

Duração da phase larval da bróca do algodoeiro, 1936

Temperatura °C.	Duração em dias			N.º de larvas Total
	Media	Minima	Maxima	
25	38,4	29	43	5
24	52	52	52	3
23,5	48,33	46	51	6
23	50,36	41	69	30
22,5	73,61	62	82	13
22	47	36	69	3
21,5	72,66	65	88	3
				63

correlação entre a temperatura e o tempo necessario para o seu desenvolvimento, conforme se vê na tabella 11. As temperaturas médias para os periodos de desenvolvimento de cada larva foram computadas tendo sido classificadas, de accordo com as temperaturas, a duração desses periodos. 47 % das 63 larvas, isto é, 30 larvas, completaram sua alimentação sob uma temperatura média de 23° C., sendo precisa uma média de 50,8 dias para completarem o seu periodo de alimentação. Uma ligeira diminuição da média de temperatura resultava, commumente, num consideravel augmento na extensão do periodo. Isso foi principalmente observado nas larvas criadas durante os mezes de inverno.

Como se indicou acima, outros factores, sem duvida, influiram no desenvolvimento normal das larvas. Dentre esses o alimento foi provavelmente o mais importante.

Em muitos casos 3 ou 4 larvas da mesma idade, alimentando-se da mesma planta, apparentemente sob condições ideaes, pelo menos emquanto o alimento foi necessario, completaram sua alimentação em occasiões differentes, algumas necessitando de 8 a 14 dias mais do que outras.

PERIODO PREPUPAL

O periodo prepupal, para 90 individuos criados em 1936, variou de 1 a 9 dias, com uma média de 3,91 dias. As annotações desses

TABELLA 12

Duração da phase prepupal da bróca do algodoeiro, 1936

Temperatura °C.	Duração em dias			N.° de prepupas Total
	Media	Minima	Maxima	
25	2	1	5	6
24,5	3,2	2	7	12
24	2,8	1	5	9
23,5	4	2	6	10
23	4,3	1	9	14
22,5	3,2	1	6	9
22	4	1	8	4
21,5	5,2	4	6	7
21	6,2	3	8	5
20,5	3	2	6	4
20	5,4	3	8	5
19	6	5	8	3
18,5	3,5	3	4	2
				90

dados foram obtidas desde 2 de Janeiro de 1936 até 10 de Julho de 1936. A duração da phase prepupal variou de accordo com a temperatura, porém nem sempre essa influencia foi evidente, conforme se resume nos dados da tabella 12. Os registros para esses 90 individuos criados estão representados do mesmo modo que os mencionados para a duração da phase larval.

PERIODO NYMPHAL

Ao periodo prepupal ou estadio de repouso ségue-se uma muda final, depois da qual a larva crescida entra no verdadeiro estadio pupal. A transformação em pupa verifica-se dentro da cavidade oval, previamente preparada, em qualquer porção do algodoeiro onde cessou a alimentação, conforme foi descripto em outro lugar. Durante os estadios prepupal e nymphal as cellulas conservam-se fechadas.

TABELLA 13

Duração da phase nymphal da bróca do algodoeiro, 1936

Temperatura °C.	Duração em dias			N.º de nymphas Total
	Media	Minima	Maxima	
27	8	8	8	1
26,5	10	10	10	1
25	16	16	16	1
24,5	11,5	10	13	17
24	11,4	9	14	15
23,5	12,6	9	16	13
23	14,1	8	21	19
22,5	13,5	11	16	9
22	15,4	8	18	17
21,5	17,1	14	18	8
21	17,5	17	18	2
20,5	18	18	18	1
20	15	15	15	2
19,5	22,4	20	28	5
19	25,4	23	28	5
18,5	25,8	25	27	5
17,5	26,3	23	31	3
				124

Logo depois de transformada, a pupa é branca, tornando-se pouco depois creme. A ponta do abdomen permanece sobre uma especie de almofada constituida da pelle abandonada da larva e serragem, que estão agrupadas na base da cellula.

O periodo pupal de 124 individuos criados no insectario variou de 8 a 31 dias, com uma média de 15,17 dias. A relação entre a temperatura e a rapidez do desenvolvimento foi muito evidente durante todo o periodo em que foram feitas estas observações. Os resultados que mostram a relação entre a temperatura e a rapidez do desenvolvimento das pupas estão resumidos na tabella 13. As annotações sobre o estadio pupal foram obtidas durante o periodo de 2-1-936 a 12-8-936.

A maioria dos individuos que requereram mais de 16 dias para completar o periodo pupal foi criada durante os mezes de inverno, quando a temperatura minima frequentemente chegava a 10° C. Durante essa estação a duração do estadio pupal, bem como dos demais estadios das formas immaturas, variou grandemente com as condições climaticas.

APPARECIMENTO DO ADULTO

Immediatamente depois de ter alcançado a forma adulta, a bróca do algodoeiro é de coloração variavel, entre branco e creme, com os olhos pretos, brilhantes; cabeça, branca, exceptuando-se a fronte e rostrum, que são castanhos; mandibulas quasi pretas. A parte superior do prothorax, segmentos das patas e extremidades posteriores dos esclerites do tergum, castanhos. Tibias e tarsos pardos, brilhantes. As azas, finas e transparentes, ficam estendidas e expostas por baixo dos elytros. Logo ellas se distendem, attingindo seu comprimento total além da ponta das azas superiores e abdomen. Quando sufficientemente endurecidas, dobram-se e occultam-se por baixo dos elytros. Segue-se um periodo de repouso, até que as paredes do corpo e appendices se tornam escuros. De uniformemente pardo-brilhante, passam á coloração mais escura, quasi preta. Nessa occasião o tegumento da bróca adulta adquiriu bastante rigidez e o insecto procede á emersão da cavidade pupal. Removendo os excrementos e serragem que obstruem a galeria, caminham para a superficie da raiz ou caule, alcançando a casca. Esta offerece pouca resistencia e a bróca faz um furo certo e arredondado, por onde sae. Mesmo quando a infestação é intensa, o que póde acontecer a qualquer algodoeiro, cada bróca emerge de um furo especialmente construido para a sua sahida. Pódem decorrer diversos dias desde o tempo do nascimento do adulto até o seu apparecimento no exterior da planta. O prazo que 56 individuos necessitaram para isso variou de 3 a 26 dias, com uma média de 10,35 dias, durante

1935-936. Commumente, logo depois da emersão, começam a alimentar-se, indifferentemente, de folhas ou de cascas verdes.

DURAÇÃO DO CYCLO DE VIDA

A duração do cyclo de vida ou o tempo de desenvolvimento total desde ovo até adulto, calculado sobre 38 individuos criados, forneceu um maximo de 128 dias e um minimo de 40. A tabella 14 mostra, semanalmente, os maximos e minimos de tempo necessario para as completas transformações do *Gasterocercodes*, desde Novembro

TABELLA 14

Resumo do periodo de desenvolvimento do ovo até adulto, de 38 individuos criados fóra do insectario, de Novembro de 1935 a Agosto de 1936 em Campinas

N.º do individuo	Postura	Eclosão	Transformação da			Duração do ovo a adulto (Dias)	Temperatura Media °C.
			Larva em prepupa	Prepupa em nympha	Nympha em adulto		
10	20 - Nov.	27 - Nov.	23 - Dez.	26 - Dez.	8 - Jan.	49	23,69
18	25 - Nov.	2 - Dez.	20 - Dez.	24 - Dez.	5 - Jan.	41	23,79
28	28 - Nov.	5 - Dez.	26 - Dez.	2 - Jan.	13 - Jan.	46	24,02
33	2 - Dez.	7 - Dez.	27 - Dez.	30 - Dez.	11 - Jan.	40	24,25
37	6 - Dez.	13 - Dez.	2 - Jan.	11 - Jan.	17 - Jan.	42	23,86
44	12 - Dez.	20 - Dez.	—	9 - Fev.	20 - Fev.	70	24,46
45	16 - Dez.	24 - Dez.	—	22 - Jan.	30 - Jan.	45	24,73
47	21 - Dez.	27 - Dez.	—	—	24 - Fev.	65	24,32
52	25 - Dez.	27 - Dez.	—	—	15 - Fev.	52	24,63
71	26 - Dez.	4 - Fev.	21 - Mar.	30 - Mar.	12 - Abr.	108	23,97
76	1 - Jan.	9 - Jan.	—	—	5 - Abr.	95	24,20
82	3 - Jan.	11 - Jan.	—	—	24 - Fev.	52	24,82
131	4 - Jan.	13 - Fev.	—	—	24 - Abr.	111	23,05
90	14 - Jan.	23 - Jan.	—	—	1 - Mar.	47	25,02
94	17 - Jan.	24 - Jan.	10 - Mar.	13 - Mar.	25 - Mar.	68	24,42
98	18 - Jan.	—	—	—	9 - Mar.	51	24,42
108	24 - Jan.	30 - Jan.	20 - Mar.	22 - Mar.	5 - Abr.	72	24,09
109	28 - Jan.	4 - Fev.	—	—	21 - Mar.	53	24,06
154	8 - Fev.	17 - Fev.	—	—	24 - Abr.	76	23
163	11 - Fev.	19 - Fev.	—	—	12 - Abr.	61	23,45
178	16 - Fev.	25 - Fev.	13 - Abr.	21 - Abr.	8 - Maio	82	22,95
182	17 - Fev.	—	—	—	20 - Abr.	63	23,08
192	24 - Fev.	—	—	—	2 - Maio	68	22,70
202	26 - Fev.	—	30 - Abr.	5 - Maio	20 - Maio	84	22,80
223	3 - Mar.	12 - Mar.	4 - Maio	10 - Maio	25 - Maio	83	22,97
219	3 - Mar.	12 - Mar.	—	—	8 - Maio	66	22,95
238	7 - Mar.	15 - Mar.	—	—	14 - Maio	68	23,11
259	12 - Mar.	20 - Mar.	28 - Maio	2 - Jun.	20 - Jun.	100	22,80
266	14 - Mar.	—	—	—	20 - Maio	67	23,03
269	17 - Mar.	—	7 - Jun.	8 - Jun.	26 - Jun.	101	22,57
285	22 - Mar.	—	—	—	28 - Maio	67	22,88
317	27 - Mar.	—	26 - Jun.	6 - Jul.	2 - Ago.	128	21,3
326	29 - Mar.	—	27 - Jun.	1 - Jul.	27 - Jul.	120	21,46
335	31 - Mar.	—	—	—	29 - Jun.	90	22,26
342	6 - Abr.	14 - Abr.	—	—	5 - Jul.	90	21,96
348	13 - Abr.	26 - Abr.	4 - Jul.	13 - Jul.	13 - Ago.	122	20,52
350	18 - Abr.	30 - Abr.	—	—	13 - Jul.	86	21,59
356	27 - Abr.	6 - Maio	10 - Jul.	18 - Jul.	12 - Ago.	107	20,53

de 1935 até Agosto de 1936. O prazo médio preciso para completar o desenvolvimento dos estadios immaturos, durante o mesmo periodo, foi 73,68 dias. Esta média está baseada em dados na maior parte obtidos durante os mezes de verão, sendo provavelmente mais baixa do que uma que incluisse dados colhidos no outomno e inverno.

As condições do tempo, a época do anno, o numero de individuos por planta e a natureza do ataque evidentemente affectam o termo médio necessario ao cyclo da vida da bróca do algodoeiro. Sob condições optimas, as quaes se verificam quando a média das temperaturas seja cerca de 23° C. e haja alimento favoravel para a larva, seria possivel que os estadios immaturos se completassem em 78,5 dias, assim distribuidos: 10 dias para incubação, 50 dias para o periodo de alimentação larval, 4,5 dias para o periodo prepupal e 14 dias para o estadio nymphal. No entanto, as condições optimas de alimento e temperatura raramente se prolongam por muito tempo, e então um ou mais estadios ficam sujeitos ao retardamento ou ao desenvolvimento rapido antes do insecto attingir á sua forma adulta.

PROPORÇÃO DOS SEXOS

Sob as condições normaes do campo, tanto na primeira como na segunda geração do *Gasterocercodes brasiliensis,* tal como se observa no Estado de São Paulo, as proporções dos sexos são approximadamente iguaes. As verificações procedidas em 583 individuos colhidos ou criados durante o periodo de Setembro de 1935 a Outubro de 1936 mostraram a existencia de 283 machos e 300 femeas. De uma porção de adultos sahidos de material infestado pelas brócas que transpuzeram o inverno, e colhidos em 31 de Dezembro de 1936, foram machos 181 e femeas 243. As brócas apanhadas nos algodoaes durante a cultura, e examinadas, forneceram elementos para crer que as proporções dos sexos sejam provavelmente as mesmas.

NUMERO DE GERAÇÕES

Não póde ser determinado nenhum numero definitivo de gerações para o *Gasterocercodes brasiliensis.* No campo, em qualquer tempo, podem ser encontrados todos os estadios desse insecto e as brócas de uma geração attingem e se confundem com as da outra geração. Adultos que transpõem o inverno pódem continuar a oviposição durante todo o verão, até depois da colheita. Tem sido possivel constatar femeas da primeira e segunda geração, que estejam em plena actividade durante o periodo de desenvolvimento dos algodoeiros, effectuarem a postura nos mezes frios e, depois de um certo intervallo, reiniciarem a oviposição em algodoeiros do plantio seguinte. O desenvol-

vimento das brócas é contínuo onde os algodoeiros permanecem no campo durante o anno todo. Foi possivel calcular o numero de gerações do *Gasterocercodes brasiliensis* num anno, de accordo com a duração dos estadios immaturos durante cada mez de cada estação. Tomando-se um periodo de 10 dias para o adulto alcançar a maturidade e copular, e 5 ou 6 dias, em média, até que seja posto o primeiro ovo, acrescentando-se a esse prazo a média de tempo necessaria para cada estadio individual, será possivel obter um maximo de quatro gerações por anno. Desse modo, durante a safra 1935-936, as femeas que atravessaram o inverno depositaram os primeiros ovos em 6 de Outubro, dando origem á primeira geração de adultos em 26 de Novembro, necessitando 51 dias para que nascesse o primeiro individuo. Os primeiros adultos da segunda geração poderiam surgir em 19 de Fevereiro, depois de 69 dias; os da terceira geração, em 28 de Maio, depois de 82 dias e, finalmente, a quarta, em 8 de Outubro, depois de cerca de 116 dias. A differença no tempo médio necessario ao desenvolvimento de cada geração successiva é dependente das condições da planta hospedeira e tambem da temperatura.

Conforme se disse acima, todas as gerações se intercalam grandemente entre si.

Deverá ser comprehendido que quatro gerações representam o numero maximo possivel durante o anno, baseado nas médias dos periodos de desenvolvimento durante varios mezes, não querendo isso dizer que assim aconteça com o verdadeiro cyclo de vida nas condições do campo. Devido á grande longevidade dos adultos, occorre menos do que uma geração completa, mesmo que as condições sejam muito favoraveis. Os individuos da primeira geração formam a maior quantidade da população de brócas durante uma cultura.

PARTHENOGENESE

Afim de verificar si o *Gasterocercodes brasiliensis* se reproduziria por parthenogenese, 30 femeas virgens, obtidas de 7 a 11 de Março, foram divididas em grupos de 10 e guardadas em placas de Petri. Suppridas diariamente com pedaços de caules de algodão, tinham, desse modo, constantemente, material para alimentação e tambem para a oviposição. Até meados de Junho obtiveram-se somente 10 ovos, tendo sido parte delles postos no fundo das placas. Devido á infertilidade, nenhum dos ovos eclodiu, podendo-se por isso concluir que a reproducção parthenogenetica não se verifica. As femeas virgens manifestaram uma tendencia muito fraca para a oviposição.

DISSEMINAÇÃO

Em vista dos elementos que possuimos, não ha razões para que duvidemos da existencia da bróca no Estado desde que os primeiros algodoaes foram cultivados. Essa hypothese está firmada no modo por que seria possivel explicar o apparecimento, nesses ultimos 8 a 10 annos, das quantidades prejudiciaes do *Gasterocercodes brasiliensis* em locaes recentemente cultivados e isolados, que se encontram praticamente em todo o territorio paulista. A disseminação não se verificou numa determinada direcção e a propagação foi rapida e proporcional á intensificação das áreas destinadas á producção do algodão.

A disseminação da praga por meios artificiaes, taes como os transportes de algodoeiros vivos, parece não ser provavel, não tendo muita importancia devido aos habitos naturaes do insecto sob as condições do campo. O transporte de plantas atacadas, de um para outro logar, não é uma pratica usual, não se podendo considerar como um factor que possa influir muito na propagação dessa praga. Nossos conhecimentos actuaes, comtudo, indicam que a disseminação se verifica mais pelos meios naturaes, já andando, já pelo vôo. A bróca tem as azas bem desenvolvidas, não se tendo, porém, occasião de observal-a voando, apezar das numerosas experiencias feitas com o fim de o provocar. E' entretanto, perfeitamente concebivel que a migração possa realizar-se, quer provocada por determinadas condições atmosphericas, quer pela falta de hospedeiro apropriado, o que a força a procurar lugares mais adequados á propagação.

Temos observado que novas plantações effectuadas em campos adjacentes a terrenos já cultivados e infestados soffrem os primeiros ataques ao longo da divisão com o campo contaminado e, á medida que o algodoal se desenvolve, a disseminação progride para o centro em proporções cada vez maiores, indicando, desse modo, que as femeas adultas migraram a pé. As brócas andam muito activamente, movimentando-se com grande agilidade. E' possivel, tambem, que durante a época chuvosa ellas sejam transportadas, pelas enxurradas, a grandes distancias. Além disso os ventos igualmente pódem ser um auxilio á disseminação natural.

Desde que um campo se torne contaminado, a população de brócas e infestação tendem a augmentar de anno para anno. Isso prova que os insectos têm pouca inclinação para a migração, a menos que lhes falte completamente o alimento. Em regra as condições dos campos favorecem a sobrevivencia das brócas e ellas ahi permanecem emquanto houver alimento e protecção.

A presença de outras plantas hospedeiras nas regiões algodoeiras do Estado facilmente explicariam o apparecimento da bróca nas novas

zonas destinadas á cultura do algodão. No entanto, pelo que sabemos no momento, relativamente a esse ponto, julgamos que as plantas hospedeiras não são essenciaes á vida da bróca nas condições existentes no Estado, actualmente.

INIMIGOS NATURAES

ESPECIES DE PARASITAS CRIADOS E NOTAS SOBRE A SUA BIOLOGIA

Entre os inimigos naturaes da bróca do algodoeiro, os parasitas microhymenopteros são, indubitavelmente, os mais abundantes e os mais efficientes no combate a essa praga, sob as condições do Estado de São Paulo. Em 1935 e 1936, 12 especies de parasitas foram obtidas, de caules e raizes atacadas pelas larvas da bróca, durante as investigações sobre a biologia do *Gasterocercodes brasiliensis.*

Apezar de não ter sido possivel colligir informações mais detalhadas sobre a importancia, distribuição em diversas épocas do anno e efficiencia das especies mencionadas a seguir, as notas seguintes sobre as varias especies criadas parecem dignas de publicação nesta occasião.

Heterospilus gossypii MUESEBECK *(Hym. Braconidae)*

Os primeiros specimens de *Heterospilus gossypii* observados pelo autor foram obtidos de larvas da bróca do algodoeiro e colhidos em Março de 1935, em Campinas. Sómente 4 exemplares foram criados nesse anno. Durante a cultura seguinte, em 1936, mais de 300 specimens foram obtidos, tendo sido possivel determinar definitivamente esta especie como sendo um parasita externo e primario das larvas de *Gasterocercodes brasiliensis.* Os specimens remettidos para identificação foram considerados novos para a sciencia, tendo sido a descripção original, por C. F. W. MUESEBECK (*), publicada recentemente na Revista de Entomologia.

Heterospilus gossypii (estampa 17, fig. *V*) é um dos parasitas mais importantes da bróca do algodoeiro. Foram criados 96 individuos e 214 outros foram obtidos pelo exame de 1.240 algodoeiros provenientes de 61 municipios do Estado, no fim da colheita de 1936. Este parasita foi constatado em 47 dos 61 municipios de onde proveio o material que foi examinado. Póde-se, portanto, admittir que a sua distribuição se extende, praticamente, por toda a zona algodoeira do Estado.

Adulto — Os parasitas adultos são muito activos quando a temperatura attinge cerca de 25° C. Em temperaturas baixas e durante o tempo frio pemanecem inactivos ou em repouso. A copula foi no-

---

(*) MUESEBECK, C. F. W. — 1937 — Three new Brazilian species of *Heterospilus* (Hym. Braconidae), parasites of *Gasterocercodes gossypii* Pierce. Rev. de Entomologia, 7: 8-11.

tada no dia immediato á emersão. Sob as condições de laboratorio a oviposição se verificou rapidamente quando caules de algodoeiros infestados foram expostos ás femeas em tubos de vidro. A femea adulta é dotada de um ovipositor comprido, sendo capaz de perfurar o caule para localizar e paralysar a larva da bróca. As larvas quasi plenamente desenvolvidas ou completamente crescidas são as preferidas pelos parasitas femeas para a oviposição. Nunca se observaram nem os ovos nem as larvas do parasita sobre prepupa ou nymphas da bróca.

Ovo — O ovo é posto em qualquer lugar sobre o corpo da larva da bróca. Póde ficar adherente á larva ou ás paredes da galeria, proximo ao seu hospedeiro. Mais do que um ovo pode ser posto na mesma larva; porém, neste caso, nunca mais de uma larva do parasita attinge á maturidade. O ovo é opaco, de côr branca acinzentada. E' liso, alongado e afilado abruptamente perto do meio, formando um processo comprido, semelhante a um rabo, que se mostra ligeiramente enrugado ou com depressões transversaes pouco profundas. Esse processo póde tomar qualquer posição, sendo, muitas vezes unido contra o corpo do ovo, depois da postura. O comprimento médio para 5 exemplares foi 1,60 mm. e a largura média 0,138 mm.

Depois de ferroado pelo parasita adulto, a larva é incapaz de proseguir sua alimentação. Torna-se completamente paralysada e si o ovo é retirado a larva se conserva por varios dias antes de iniciar a decomposição. O periodo de incubação foi, em média, 4,06 dias para 33 ovos obtidos de 2 de Junho a 9 de Julho, em laboratorio.

Larva — Quando recemnascida, a larva do parasita é muito activa. Escorrega sobre o corpo do hospedeiro e logo principia a alimentação, depois de fixada numa posição conveniente, podendo mudar de lugar durante o crescimento ou quando perturbada.

A larva desenvolvida é alongada, cylindrica, fortemente curva e afilada nas duas extremidades. E' de côr branca amarellada, com os segundo a setimo segmentos mais escuros interiormente ou algumas vezes com coloração de vinho. Numerosos corpusculos brancos pódem ser observados atravéz a parede do corpo. O dorso dos segundo a sexto segmentos abdominaes, nitidamente salientes, assemelhando-se cada um a uma elevação de forma conica. A larva adulta mede, em média, cerca de 5,70 mm. de comprimento. Depois de completa a alimentação, pódem passar de 1 a 5 dias antes que a larva crescida principie a tecer o casulo. Tempo igual será necessario para encasular até não ser mais visivel atravéz do casulo. O casulo é branco e macio. Com a idade a côr passa de amarellado a pardo claro. Elle occupa a galeria ou a cavidade nymphal feita pelo hospedeiro. Quando está

prompto para emergir, o adulto roe a ponta anterior do casulo, fazendo um buraco, e então, roendo o caule, faz um buraco por onde escapa. De Junho até Agosto a duração normal de ovo a adulto foi, em média, 53,8 dias para 19 individuos criados em laboratorio, sob a temperatura média de 19º C., approximadamente. O cyclo de vida dos machos foi em média 4,4 dias menos que o das femeas.

Heterospilus hambletoni Muesebeck

Os specimens typo dessa especie foram obtidos juntamente com *Heterospilus gossypii,* e a descripção por Muesebeck foi publicada em conjuncto com a especie acima.

Embora o numero total de *H. hambletoni* criados de brócas do algodoeiro durante os dois annos passados seja menor do que *H. gossypii,* elle talvez occupe o primeiro lugar em importancia entre todos os parasitas que foram conseguidos da bróca até esta data. Esta observação baseia-se nos resultados obtidos do exame de varias centenas de plantas atacadas pela bróca, e que mostrou que os adultos de *H. hambletoni* são activos durante quasi todo o periodo da cultura algodoeira, isto é, de Novembro até Agosto. Em Março foi que os primeiros specimens de *H. gossypii* foram colhidos, sendo o ponto mais elevado de sua actividade, observado pouco tempo depois que os maiores prejuizos causados pela bróca já se tinham verificado. Devido ao pequeno tamanho do *H. hambletoni,* a sua femea é capaz de localizar seu hospedeiro mais facilmente proximo da superficie do solo, nas porções mais inferiores da planta, onde o *H. gossypii* é muito menos efficaz. Requer uma forma de larva hospedeira menor, a qual é mais facilmente localizada sob a casca, ao passo que o *H. gossypii* depende de larvas bem desenvolvidas, que geralmente são encontradas mais profundamente, no interior da planta. Accidentalmente, proximo do fim da cultura, muitas larvas da bróca do algodoeiro são encontradas alimentando-se das partes aéreas da planta, principalmente da haste primaria, sendo essas, então, sujeitas a maior parasitismo por individuos da ultima especie.

Adulto — Em geral os habitos desta especie são inteiramente semelhantes aos do *H. gossypii.* Puderam ser manuseados em laboratorio, porém, devido ao pequeno tamanho das larvas que lhes servem de hospedeiro, foi difficil crial-os satisfactoriamente em condições artificiaes, nos tubos de vidro. Na natureza é provavel que a femea deposite os ovos sómente sobre as larvas dos terceiro e quarto estadios, por

serem essas mais accessiveis e fornecerem o alimento necessario para o crescimento da larva do parasita.

Ovo — O ovo desta especie é cylindrico, alongado, arqueado e afila gradativamente da extremidade cephalica para a caudal. E' de côr branca, translucido e brilhante. As variações de forma e tamanho são consideraveis. As medidas médias de 6 ovos foram 0,687 mm. de comprimento por 0,132 mm., na maior largura. O periodo de incubação de 15 ovos, de 24 de Junho a 28 de Julho, foi em média de 3,26 dias. Esses dados foram obtidos da postura feita em caules de algodoeiros infestados artificialmente em laboratorio.

Larva — A larva rescemnascida começa a alimentação quasi immediatamente depois da eclosão. Foi precisa uma média de 6 dias para que 9 larvas completassem o seu periodo de alimentação durante os mezes de inverno. Quando completamente desenvolvida, a larva mede cerca de 4,16 mm. de comprimento. E' de côr esbranquiçada ou levemente opaca, inteiramente carnuda, afinando-se gradualmente do centro para cada extremidade. Uma fila longitudinal de dobras lateraes são observadas sobre os sete primeiros segmentos abdominaes, com o dorso de conformação normal. Esses caracteres distinguem promptamente esta especie do *H. gossypii.* Depois de curto periodo de repouso, a larva crescida principia a tecer o casulo. Este é tecido na galeria da bróca, geralmente logo abaixo da casca. O casulo é cylindrico, de forma oval grosseira, mais largo no meio. E' branco, porém com a idade póde tornar-se pardo amarellado ou roseo. Na extremidade anterior é semelhante a um funil de estructura sub-conica, cujos bordos distaes o prendem ás paredes da galeria da bróca. O adulto emerge cortando em circulo a tenue parede membranosa, na base do funil, e fazendo um furo na casca, por onde escapa.

A média de tempo preciso para 10 individuos se desenvolverem de ovo a adulto durante o periodo de 24 de Junho a 23 de Agosto, foi de 43,1 dias. Tres quartos desse tempo, isto é, 30,6 dias do cyclo de vida desses individuos foram dispendidos em forma de casulo.

Heterospilus annulicornis MUESEBECK

Esta especie de *Heterospilus* é, tambem, nova para a sciencia. Um macho e duas femeas foram obtidos juntamente com as especies precedentes, durante 1936. Nessa época, por se desconhecer a existencia de uma terceira especie, nenhuma observação foi feita naquella occasião. E' provavel, no entanto, que a sua biologia seja muito semelhante á da especie *H. hambletoni,* já mencionada.

Eurydinoteloides longiventris GAHAN *(Hym. Pteromalidae)*

Foi recentemente descripto por GAHAN (*), de specimens criados pelo autor, de larvas de *Gasterocercodes brasiliensis,* em Março de 1935, em Campinas. Foram obtidos 124 individuos durante 1936, época em que se constatou ser a sua distribuição bem diffundida pelo Estado, occupando o terceiro lugar em importancia entre todos os parasitas da bróca conseguidos naquella occasião.

E. longiventris é um parasita primario e externo. Foi observado alimentando-se de larvas quasi completamente desenvolvidas, sendo notado uma unica vez sobre a nympha da bróca. Tal como o *Heterospilus gossypii,* as femeas de *E. longiventris* precisam que as larvas hospedeiras estejam bem desenvolvidas afim de que possam prover á nova geração com sufficiente quantidade de alimento. São mais activas sobre as partes aéreas da haste principal, onde as larvas da bróca são mais facilmente encontradas de Abril a Julho.

Adulto — Em captiveiro foi possivel observar a copula e a oviposição do *E. longiventris* quando se lhes forneceram condições propicias. Foram usados para esse fim caules de algodoeiros infestados artificialmente com larvas desenvolvidas e collocadas em pequenos tubos de vidro com os parasitas adultos e tapados com pano.

Sempre que se fez necessario, foram alimentados com uma mistura, em partes iguaes, de mel de abelha e agua.

Ovo — O ovo de *Eurydinoteloides longiventris* é de coloração esbranquiçada a creme pallido. E' alongado, cylindrico e, geralmente, com um lado arqueado. E' mais largo proximo da extremidade anterior, afilando-se posteriormente. Ha um processo semelhante a mamillo em cada extremidade do ovo. A sua superficie é uniformemente coberta de espiculas, com excepção do processo mamillar em ambas as extremidades. A média para 8 ovos é 0,877 mm. de comprimento por 0,179 mm. na maior largura. Em captiveiro, foram encontrados até 5 ovos sobre uma mesma larva. Comtudo, no campo, nunca se observou mais do que um ovo ou uma larva sobre qualquer das larvas das brócas examinadas. O periodo de incubação de 13 ovos, sob as condições de laboratorio, de 23 de Junho a 7 de Julho, foi em média 3,07 dias.

Larva — A larva de *Eurydinoteloides* é muito activa durante todo seu periodo de alimentação. Quando completamente desenvolvida é de coloração branco-pardacenta suja. Devido ao conteúdo do tubo digestivo, é internamente de côr mais escura, excepto o primeiro segmento thoraxico e o ultimo abdominal, que são um tanto translu-

(*) GAHAN, A. B. — 1937 — A new Brazilian Chalcidoid parasite of *Gasterocercodes gossypii* Pierce. Rev. de Entomologia, 7: 18-21.

cidos. A larva é cylindrica, cheia, e se afila mais para a extremidade posterior do que para a anterior. O corpo tem apparencia brilhante. Uma série distincta de nove dobras dorsaes proeminentes e as cerdas do corpo, curtas, promptamente distinguem essa especie dos demais parasitas das larvas da bróca.

Foram necessarios 9,6 dias em média para que 9 individuos completassem seu periodo de alimentação. Este foi seguido de um pequeno repouso de cerca de 2 dias e, finalmente, verifica-se a expulsão dos conteúdos intestinaes da larva. O corpo tornou-se então de côr branca pura e a larva entrou no estadio prepupal. Tres dias são necessarios, em média, desde a eliminação do meconium até a transformação em nympha.

Nympha — O estadio nymphal faz-se na galeria da bróca onde a larva do parasita completou a alimentação. A nympha recem transformada é de côr pardo-pallida. Posteriormente, cerca de 7 dias, os olhos apparecem com a coloração vermelha e alguns dias mais tarde o thorax escurece gradativamente, até a transformação em adulto.

Quatro femeas permaneceram no periodo nymphal 30,7 dias, em média, emquanto 10 machos precisaram uma média de 24 dias, nas condições de laboratorio, desde 15 de Julho até 9 de Setembro. Para sahir, o insecto adulto faz um furo circular, por onde escapa. A média que 14 individuos precisaram para se desenvolverem de ovo até adulto foi 46,5 dias (de 23 de Junho a 15 de Setembro). Devido ao seu periodo nymphal maior, as femeas necessitaram, em média, 4 dias mais do que os machos para seu cyclo de vida.

Eupelmus cushmani Crawford *(Hym. Eupelmidae)*

Esse parasita parece não ter sido constatado anteriormente no Brasil. Os primeiros exemplares foram criados de larvas mumificadas de *Alabama argillacea* Hubn. apanhadas em Jaboticabal, em Março de 1936. Os specimens obtidos, remettidos ao Museu Nacional dos Estados Unidos da America do Norte, foram determinados por A. B. Gahan. De identico material, proveniente da mesma localidade, um ichneumonideo, *Hemiteles* n. sp. (det. R. A. Cushman) e um braconideo, *Rogas* n. sp. (det. C. F. W. Muesebeck) foram tambem criados na mesma occasião. Ainda não se verificou até presentemente si o *Eupelmus cushmani* é um parasita primario ou secundario do Curuquerê.

Em 23 de Junho de 1936, uma crysalida, que mais tarde provou ser *E. cushmani,* foi encontrada numa galeria da larva do *Gasterocercodes brasiliensis,* em material colhido em Campinas. Em 16 de Julho obteve-se o adulto dessa crysalida. Uma outra vez, em 20 de Agosto,

foi encontrada uma larva adulta de *Eupelmus* com os restos de uma crysalida de *Eurydinoteloides longiventris* GAHAN adherente ao corpo, parecendo isso indicar que essa especie agiu como um parasita secundario.

O numero total de *Eupelmus cushmani* obtidos de caules de algodoeiros atacados pela bróca desde Julho até Agosto foi 34. Essa especie, constatada sómente em 5 dos 61 municipios verificados, mostra que a sua distribuição é um tanto restricta.

Depois de *Eurydinoteloides longiventris* foi o *Eupelmus cushmani* a especie obtida em maior abundancia. Todas as tentativas feitas para obter a oviposição em larvas de *Gasterocercodes brasiliensis* foram baldadas. Larvas da bróca, expostas ou protegidas pelos caules de algodoeiros, foram collocadas em pequenos tubos de vidro com os parasitas adultos, porém não houve a minima indicação de postura. Em outra tentativa, foram dados casulos contendo crysalidas vivas de *Heterospilus gossypii* aos parasitas adultos. As femeas, depois de andar cuidadosamente sobre os casulos, fizeram a postura em diversas occasiões, muitas vezes depositando mais de um ovo num casulo. Um individuo nascido de um ovo posto em 28 de Julho foi criado até completo desenvolvimento sobre uma crysalida de 6 dias de idade, de *Heterospilus gossypii*. Esse specimen (macho) precisou 49 dias para completar o seu desenvolvimento de ovo até adulto. Um outro ovo, posto no dia 13 de Julho, transferido para uma larva adulta de *Gasterocercodes brasiliensis* paralysada, eclodiu em 3 dias. A larva recemnascida immediatamente começou a se alimentar, tendo, 24 dias depois, occorrido a crysalidação. Logo depois de transformada, a crysalida é de uma côr parda muito leve, tornando-se gradativamente mais escura, conforme a idade. A duração do estadio pupal é de 26 dias. O parasita adulto, nascido em 4 de Setembro, foi tambem um macho, tendo requerido 53 dias para completar o seu desenvolvimento durante a época mais fria do anno.

Emquanto a verdadeira relação entre *Eupelmus cushmani* e *Gasterocercodes brasiliensis* não ficar definitivamente conhecida, as observações e estudos continuarão, afim de esclarecer qual possa ser essa relação.

Neocatolaccus sp. *(Hym. Pteromalidae)*

Tres specimens, uma femea e dois machos, desta nova especie, foram igualmente obtidos de caules de algodoeiros atacados pela bróca, durante 1936, conjunctamente com muitos specimens de *Eurydinoteloides longiventris*. Foram encontrados numa pequena collecção de *Eurydinoteloides,* por A. B. GAHAN, do Bureau de Entomologia Norte Americano, a quem foi remettida para a conveniente determina-

ção. Esta forma de *Neocatolaccus* age, provavelmente, como parasita primario e externo, da larva hospedeira.

Zatropis incertus (ASHMEAD) *(Hym. Pteromalidae)*

Um specimen macho de *Zatropis incertus* (Ashm.) foi igualmente encontrado na collecção de parasitas identificados pelo Dr. GAHAN. Os specimens de *Neocatolaccus* e *Zatropis* são em geral menores do que os de *Eurydinoteloides,* porém, em vida, pódem ser facilmente confundidos.

Polynema sp. *(Hym. Mymaridae)*

Desse parasita de ovos, 6 machos e 3 femeas foram obtidos, tambem de caules de algodoeiros infestados com a bróca, desde Janeiro a Abril de 1936, e identificados por A. B. GAHAN. Apezar de não ter sido possivel provar si este *Polynema* é um parasita dos ovos de *Gasterocercodes brasiliensis,* ha razões para crer que estavam atacando ovos, seja da bróca do algodoeiro, seja de alguma especie de Homoptero.

Agonocryptus sp. *(Hym. Ichneumonidae)*

Sete specimens, 5 machos e 2 femeas, foram obtidos, numa gaiola contendo material infestado pela bróca, desde Fevereiro até Junho de 1936. Os 4 individuos, enviados ao Bureau de Entomologia Norte Americano, foram considerados especie nova por C. A. CUSHMAN. Nada mais pôde ser observado com relação a essa interessante especie.

FUNGOS

Achamos ainda, sobre as brócas adultas guardadas para fins de criação, no insectario, duas especies de fungos, identificados como *Botrytis* sp. e *Verticillium* sp. por J. G. CARNEIRO, do Instituto Biologico. A primeira especie (estampa 18) foi a predominante, demonstrando ser muito prejudicial, notadamente durante o tempo quente e humido. Esse fungo não foi encontrado no campo. No insectario, apezar de todos os cuidados para manter condições de criação sempre adequadas e livres do excesso de humidade, esse fungo poderia apparecer de um dia para outro.

FORMIGAS

Uma especie de formiga, determinada por T. BORGMEIER como *Acanthostichus* sp. (Formicidae), foi observada penetrando os algodoeiros sob a superficie do solo, cortando-os até as galerias das brócas e carregando as larvas e nymphas.

MEDIDAS DE COMBATE

Em virtude dos seus habitos, que lhe proporcionam grande protecção, é a bróca do algodoeiro, uma praga de combate difficil por

qualquer das medidas de controle, não tendo sido ainda encontrado nenhum processo que possa eliminar satisfactoriamente os seus prejuizos. Existem, entretanto, certos methodos que, devidamente empregados, são efficazes, attenuando as desarrazoadas perdas por ella occasionadas. Si de um lado as medidas de combate aqui recommendadas se baseiam principalmente nos tratos culturaes, de outro poder-se-á comprehender que ellas são tambem consideradas praticas aconselhadas, essenciaes á producção lucrativa do algodão. Além disso, os processos aqui mencionados baseiam-se inteiramente no conhecimento que o cyclo da vida e os habitos do insecto nos proporcionaram, sob as condições do Estado de São Paulo.

LIMPEZA DOS CAMPOS DEPOIS DA COLHEITA

A principal maneira de reduzir o numero de brócas na occasião da colheita consiste em praticar immediata e perfeitamente as medidas de prophylaxia. Quando a colheita estiver terminada, cada planta deverá ser cuidadosamente arrancada e depois queimada. Todo o matto ou qualquer outro refugo deverá ser tambem destruido pelo fogo, na mesma occasião. O campo será então preparado para o proximo plantio, seja do proprio algodão, seja de qualquer outra cultura, o que seria preferivel. A aração seria feita, tão cedo quanto possivel, depois do terreno estar livre dos refugos, etc. Mantendo o campo livre de guaxumas, outras malvaceas e mattos, sobre os quaes as brócas possam alimentar-se durante os mezes de inverno, a praga será forçada a abandonar o terreno em busca de um habitat mais favoravel. A plantação de adubos verdes, taes como mucuna, feijão de porco ou crotalaria, após a limpeza do terreno, poderia preserval-o dos mattos e tambem melhorar as suas condições. Entretanto, os effeitos dessa adubação sobre a sobrevivencia da bróca durante o inverno não estão ainda definidos, sendo necessarias mais observações e estudos antes de tornal-a uma recommendação geral.

ROTAÇÃO DE CULTURA

A rotação de cultura algodoeira deverá occupar um lugar permanente no programma de cada cotonicultor, pois essa pratica cultural é de importancia primordial no combate á bróca. Não sómente a rotação, como tambem outras praticas culturaes, estão de accordo com os principios da cultura racional, e seus resultados são manifestos. Ellas poderão ser utilizadas vantajosamente, sem outra despesa addicional, como medidas capazes de controle da praga.

Durante os mezes frios as brócas adultas são menos activas, permanecendo nos campos de algodão ou nos capinzaes que os con-

tornam. Em vista disso, o primeiro ponto a ser considerado na escolha de uma nova área para plantio deverá ser a preferencia por um terreno tão afastado quanto possivel do primitivo campo cultivado e contaminado pela praga. Assim procedendo, ao envez de crear condições favoraveis ao contínuo augmento da população da bróca, em virtude do plantio consecutivo, anno após anno, no mesmo local, a sua infestação poderá ser conservada num mesmo gráo, desde que a rotação seja praticada regularmente. De outro modo, os algodoaes, plantados em terras adjacentes, áquellas cuja contaminação pela praga foi excessiva na cultura anterior, certamente soffrerão as consequencias do ataque pelas brócas adultas, ainda quando as plantas estiverem pequenas. A vida dos insectos é transtornada sempre que se faz a rotação de cultura, porque as provisões de alimentos são eliminadas, sendo elles, então, forçados a procurar outros meios de manutenção ou a morrer de inanição antes de alcançarem as novas plantações.

O PLANTIO

Afim de evitar infestações serias, as quaes poderão redundar em prejuizos praticamente totaes, é geralmente aconselhavel, para a maioria das regiões algodoeiras do Estado de São Paulo, retardar o plantio até a segunda quinzena de Outubro. Os algodoaes plantados muito cedo raramente escapam ás grandes perdas pela bróca nessa occasião, porque as condições de temperatura e especialmente a quantidade de chuvas são commumente menos propicias ao rapido desenvolvimento das pequenas plantas. O crescimento rapido dos algodoeiros é um factor importante para a sua resistencia á bróca. Que esta recommendação seja francamente acceita parece justificavel em vista dos resultados obtidos pelas numerosas observações feitas em campos de diversas regiões do Estado. Além disso, as experimentações relativas á «Época do plantio», praticadas pela Secção de Algodão do Instituto Agronomico por muitos annos, mostraram cabalmente que os algodoaes de Setembro foram quasi sempre inferiores, principalmente devido á grande contaminação pela bróca. Em 1936 e 1937, os algodoaes de Setembro, plantados em diversas localidades, soffreram, não sómente vultosas perdas pela bróca, mas tambem um precoce ataque pela lagarta rosada, *Platyedra gossypiella* Saunders e *Dysdercus* spp., o que resultou em intenso «shedding» durante os mezes de Novembro e Dezembro.

Muitas sementes deverão ser semeadas em solos bem preparados para obter uma germinação garantida e, ao mesmo tempo, prover as brócas com um excesso de plantas para a oviposição, as quaes serão arrancadas na occasião do desbaste. E' melhor não espaçar as plan-

tas mais do que o necessario, porque a bróca, certamente, eliminará uma determinada porcentagem de algodoeiros durante os primeiros mezes. Desse modo, os ovos da bróca, sendo distribuidos sobre um maior numero de plantas, a porcentagem de individuos por pé seria reduzida e, nos locaes muito contaminados, o total de pés mortos poderia não attingir ao numero de algodoeiros que normalmente deveriam permanecer no campo. No entretanto, em áreas demasiadamente infestadas, a bróca póde concentrar seu ataque de tal modo que 50 % de plantas morrerão antes de começarem a abrir as maçãs.

CULTURA NO LIMPO

Os algodoaes deverão ser mantidos limpos dos mattos e plantas que estiverem morrendo pelo ataque de brócas. Nada é mais prejudicial á nova plantação do que a excessiva quantidade de mattos crescidos. Elles roubam a humidade e fertilidade dos solos e proporcionam protecção ás demais pragas. A remoção das plantas mortas ou que estejam morrendo pela contaminação por brócas, durante o periodo de crescimento do algodoal, poderá não mostrar uma diminuição no numero total de plantas atacadas em comparação com outros annos. E' essa a razão por que os resultados nem sempre são satisfactorios onde esta medida tem sido posta em pratica, tornando-se visivel que as medidas prophylacticas não são, por si sufficientes. Contudo o lavrador não deverá prescindir dellas, por saber que tal pratica é de summa importancia na reducção da população total da bróca. Esta medida é especialmente aconselhavel para locaes onde o plantio de algodão foi repetido mais de uma vez ou onde novos algodoaes são plantados em terrenos ligados a outros já cultivados e infestados.

ABSTRACT

Investigations of the life history and habits of the cotton borer in the State of São Paulo were conducted at Campinas during the season of 1935-936.

The cotton borer, Gasterocercodes brasiliensis, recently described as a new species, has been known as a pest of cotton in Brasil since 1905. Ever since the first authentic publication appeared in 1916, the species has been refered to in literature under name G. gossypii Pierce, a closely related form occuring in Peru and Equador. Besides São Paulo, G. brasiliensis occurs in the States of Maranhão, Ceará, Bahia, Minas Geraes, Rio de Janeiro, Espirito Santo, Paraná and the Districto Federal. The identity of the species attacking cotton in the other Brasilian states has not been confirmed. Specimens

from the Chaco, Argentina, are reported to be identical with the Brasilian species occuring in São Paulo.

The cotton borer causes serious damage to cotton throughout practically the entire cotton area of the State. Losses calculated for the 1935-936 crop are estimated conservatively at 34,000 contos de réis.

Technical descriptions of the adult and immature stages of the cotton borer are given.

The true host plants are confined exclusively to genera of the family Malvaceae, Gossypium spp. (cotton), Hibiscus esculentus L. (okra) and H. sabdariffa L. (vinagreira). In captivity the adult insects fed on Sida rhombifolia L., S. cordifolia L., S. acuta L., Malvastrum coromandelian Garke, Hibiscus rosa-sinensis L. and Chorisea speciosa St. Hil.

The most seriously attacked host was Gossypium purpurascens Poir while G. trilobum Moc et Sess. appeared to be most resistent to the weevil.

The adults feed at first on the stems and tender foliage of the growing plants but later confine their feeding almost entirely to the stalks near the soil surface. The young larvae bore into the center of the stem or root causing death of the plant. As the plants become older, larval attack is confined almost entirely to the area between the bark and the woody tissue. Feeding galleries are made in all directions often encircling the plant causing it to wither and die. In seriously infested plants, egg-laying occurs in the aerial parts and larval feeding is confined principally to the pith. It may occur in green bolls, and in these, feeding is limited to the pericarp. Infested plants may wilt and die rapidly during hot weather or their foilage becomes weakened, turns pale to reddish-bronze in color. Those that resist attack often fail to show apparent external symptoms in the aerial parts, but the underground stem and roots often present large swellings resulting from a proliferation at the point of attack, or they may become corkylike and the bark crack open.

Adult weevils spend the winter in cotton fields where remains of the old crop exist or in other weedy habitats where food and moisture are available. True hibernation has not been observed. Oviposition and weevil development may continue during the winter months if cotton plants are allowed to remain and if conditions of temperature are favorable.

Overwintering females appear in new cotton fields in late September and October and begin egg-laying in the small plants. Oviposition

by these females continued until April. Females of both first and second generations continued egg-laying to the end of the season and during the winter months.

Conditions in São Paulo cotton fields are conducive to winter survival. Various factors affecting the weevil during this period are discussed. Several hundred infested plants containing all stages of the weevil placed in cages, with and without green food, proved that the adults are capable of existing for a period of approximately two months when provided with dry cotton stalks for protection. When food and moisture were supplied, the cages yielded a larger number of live weevils during the same period.

Adults may be present in cotton fields during the entire year especially where rotation is not practiced.

The average longevity of first generation females kept for oviposition records in an insectary was 200.4 days. One individual lived for 377 days. A first generation male lived for 509 days. The males, as a rule, lived longer than the females. The maximum longevity was 286 days for a second generation female, the average for this generation being 199.2 days.

Weevils confined without food or water have lived as long as 12 days. With water alone one weevil lived for 60 days. The maximum length of life of weevils feeding on several miscellaneous plants was 78 days, indicating that the insect is probably capable of withstanding rather adverse field conditions without its prefered food plant.

Mating occurs soon after adult emergence, and oviposition begins from 1 to 23 days, or on an average of 5.51 days, as observed for females of the first generation. The eggs are laid singly, in small cavities beneath the surface of the stem, root, and occasionally in the boll. The lower portion of the stalks, near the soil, is prefered for oviposition.

Results are given to indicate that the quality of food, temperature and humidity are important factors affecting oviposition.

In the insectary the average oviposition period was 144.81 days and the maximum was 338 days for first generation females confined in petri dishes. The average for second generation females was 167.57 days. The average number of eggs per female, under the same conditions, was 159.17, and the daily rate of egg deposition was 1.06 eggs for females of both generations.

The incubation period for all eggs ranged from 5 to 18 days with an average of 10.69 days for the entire season. All stages except the adult stage are passed within the cotton plant. The larva molts

at least five times during its development in the plant, and the normal period of development ranges from 29 to 88 days. Host plant conditions, nature of attack, and temperature are important factors determining rate of larval growth. The mature larva forms a cell in the woody part of the plant and enters the prepupal stage which lasts from 1 to 9 days.

The pupal period ranges from 8 to 31 days with an average of 15.17 days.

The adult spends from 3 to 26 days, or an average of 10.35 days in the cell before emerging. During this time no food is taken and the body hardens and becomes darker in color. The adult emerges by cutting a circular hole in the bark at the end of its feeding tunnel near the cell.

The average time required for 38 individuals to complete their entire life cycle from egg to adult was 73.68 days during November to August.

The proportion of sexes is approximately egual.

The exact number of generations can not be determined accurately owing to the long life of the adults and the fact that all stages of the insect may be found throughout the year. Four partial generations is the maximum that may occur and it is doubtful if even one is ever completed.

Reproduction by parthenogenese did not occur, and virgin females manifested little, if any desire, to oviposit.

Dissemination apparently is accomplished by flight and by crawling. Artificial means of dissemination are not considered of any importance. New cotton fields soon become infested and the degree of infestation increases from year to year. Alternate host plants may explain why the insect has so quickly established itself in new cotton areas.

Natural enemies are present during practically the entire season and are effective in reducing weevil population. Twelve species of parasites were reared from weevil infested plants, nine of which are reported as follows: Heterospilus gossypii Mues., H. hambletoni Mues., H. annulicornis Mues., and Eurydinoteloides longiventris Gahan, all recentry described species, are primary external parasites of the cotton borer. Biological notes on the above species are given. Eupelmus cushmani Craw., Neocatolaccus sp., Zatropis incertus (Ashm.), Agonocryptus sp. and Polynema sp., were less abundant and their status as primary parasites of Gasterocercodes brasiliensis Hambleton is yet doubtful.

Adult weevils in captivity were killed by two fungi, Botrytis sp. and Verticillium sp. An ant, Acanthostichus sp. was also found carrying off larvae and pupae of the cotton borer.

The following recommendations for control are given:

1 — *Destruction of all cotton plants after harvest and maintaining fields free from crop refuse, weeds, etc.*

2 — *Rotation of the crop.*

3 — *Delay planting until the middle of October.*

4 — *Sow plenty of seed, not spacing the plants more than necessary.*

5 — *Maintain the crop free from dying plants by destruction of same during the growing season.*

EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

Estampa 7

Fig. A — Vista parcial do insectario usado para os estudos da biologia da bróca do algodoeiro, Campinas, S. Paulo.

Fig. B — Uma parte do insectario, vista do interior.

Estampa 8

Fig. C — Material usado para obter os dados de oviposição dos casaes individuaes da bróca do algodoeiro. (Autor phot.)

Fig. D — Os pequenos pedaços de caules, contendo ovos ou larvas, foram conservados em vidros de lampeão (mangas) sobre prateleiras de madeira. (Autor phot.)

Estampa 9

Fig. E — *a* — Lesão feita pela femea adulta para a desova; *b* — Lesão feita pelos adultos para se alimentarem da casca do algodoeiro. × 30.

Fig. F — Cavidade da postura com a casca removida mostrando os ovos. × 30.

Estampa 10

Fig. G — Adultos de *Gasterocercodes brasiliensis* HAMBLETON, × 7,5.

Fig. H — Ovos de *Gasterocercodes brasiliensis*. × 27,5.

Fig. I — Corte longitudinal da haste de um algodoeiro de 20 dias mostrando o ataque da bróca. × 15.

Estampa 11

Fig. J — Plantinhas mostrando o ataque dos adultos. Esta forma de ataque não é commum, mas pode ser observada no campo. (Autor phot.)

Fig. K — Algodoeiros com cerca de um mez, mostrando o ataque precoce da bróca. (Autor phot.)

Estampa 12

Fig. L — Corte longitudinal da haste de um algodoeiro de 6 mezes, mostrando o ataque da bróca na medulla. × 2,5.

Fig. M — Raizes de algodoeiros, mostrando o hypertrophismo da parte atacada; *a* — corte longitudinal.

Estampa 13

Fig. N — *a* — Raizes de algodoeiros, mostrando a profundidade do ataque sob o nivel do sólo; *b* — Raiz com a casca morta removida, mostrando as galerias feitas pelas larvas.

Fig. O — Ataque da bróca em algodão arboreo.

Estampa 14

Fig. P — Vista parcial de um algodoal, mostrando as plantas murchas e mortas, cuja permanencia no terreno não deve ser permittida. (Autor phot.)

Fig. Q — Os algodoeiros plantados em Setembro quasi sempre soffrem mais prejuizos do que os plantados mais tarde. A photographia mostra grande numero de falhas; as plantas ainda verdes não conseguiram manter-se vivas até o fim da cultura. (Autor phot.)

Estampa 15

Fig. R — O quiabeiro, *Hibiscus esculentus* L. é tambem atacado pela bróca. (Autor phot.)

Fig. S — Plantação de vinagreira, *Hibiscus sabdariffa* L. Tambem representa outro hospedeiro da bróca. (Autor phot.)

Estampa 16

Fig. T — Uma vista typica de um algodoal, abandonado depois da colheita. Este campo forneceu condições optimas para a sobrevivencia das brócas adultas, durante o inverno. Photographado em Outubro de 1936. (Autor phot.)

Fig. U — Typo de gaiola contendo algodoeiros arrancados, usado nos estudos de sobrevivencia, etc. (Autor phot.)

Estampa 17

Fig. V — Femea adulta de *Heterospilus gossypii* MUESEBECK, × 9.

Fig. W — Femea adulta de *Eurydinoteloides longiventris* GAHAN, × 9.

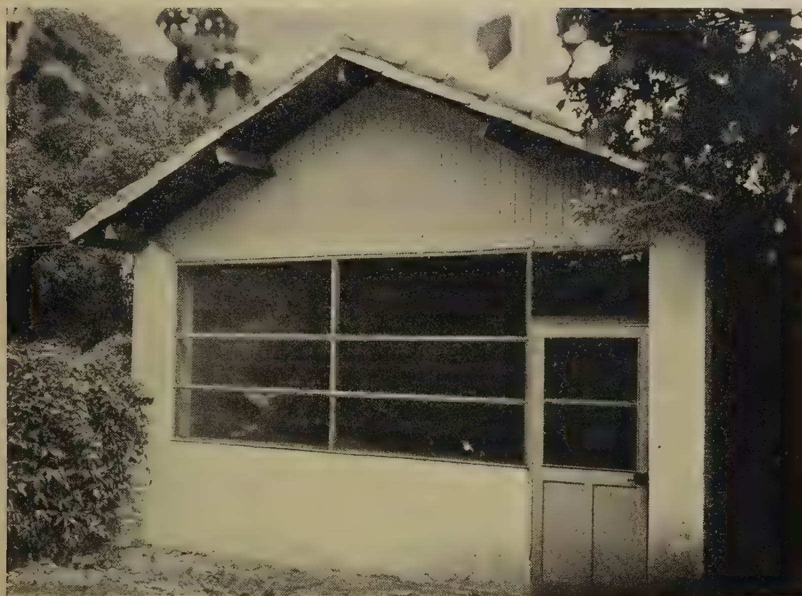
Fig. X — Femea adulta de *Eupelmus cushmani* CRAWFORD, × 13.

Fig. Y — Femea adulta de *Heterospilus hambletoni* MUESEBECK, × 15.

Estampa 18

Adultas de *Gasterocercodes brasiliensis* HAMBLETON mortos pelo fungo *Botrytis* sp. × 8.

———o———



A

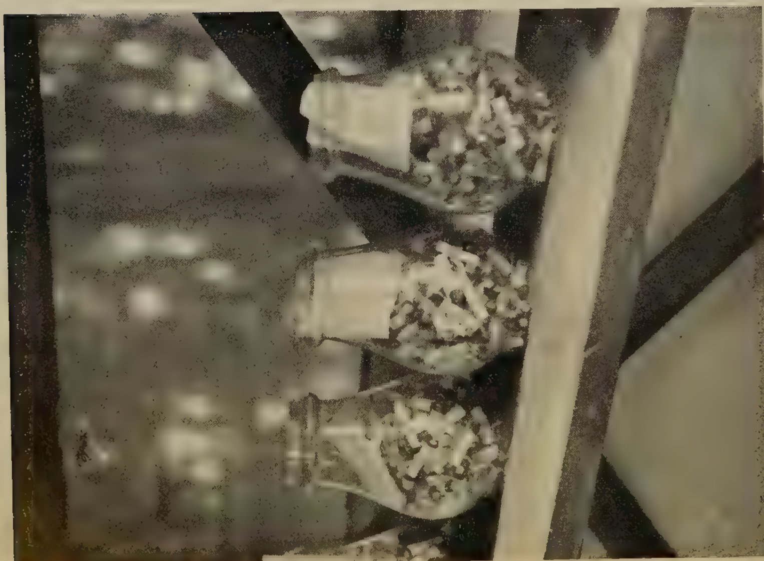


B

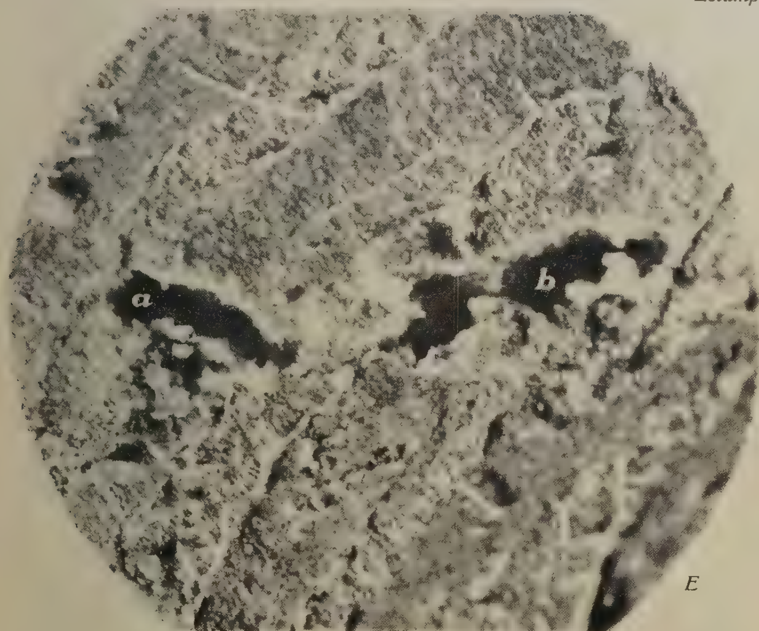
Estampa 8

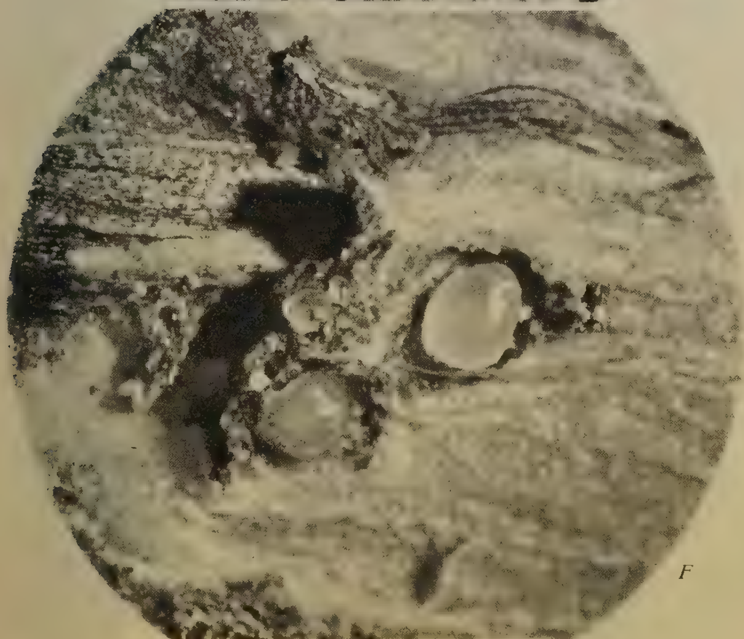


C



D


a
b
E

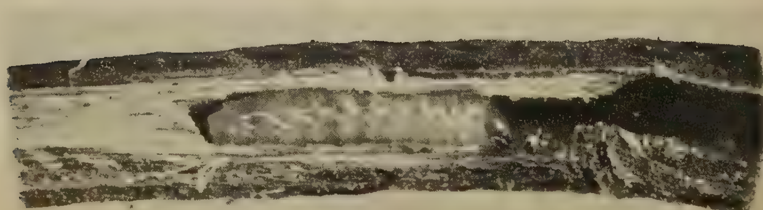

F



G



H



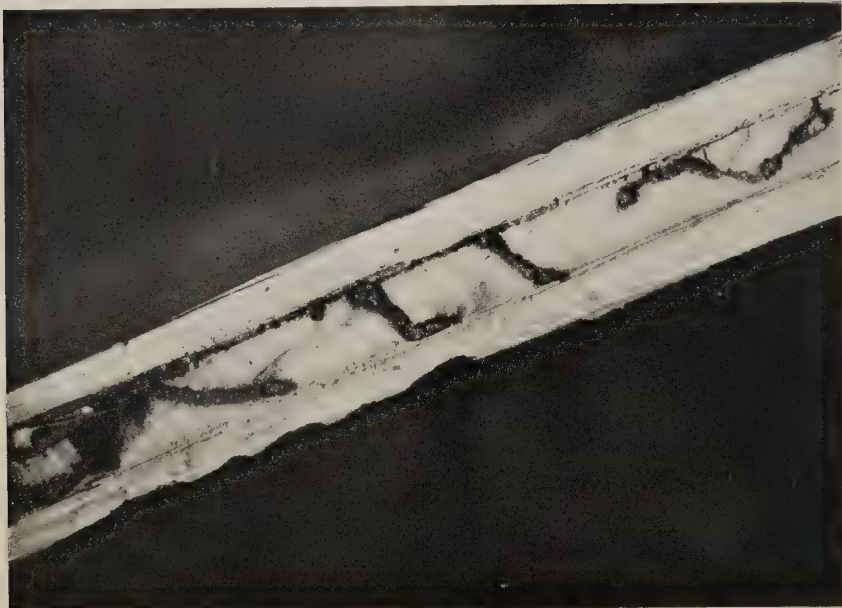
I



J



K



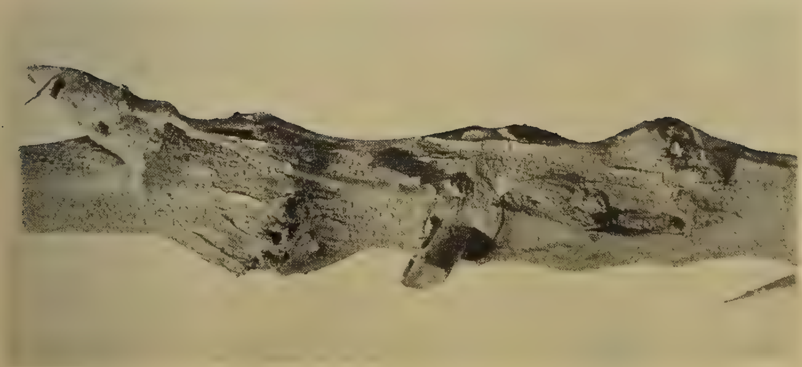
L



M



N



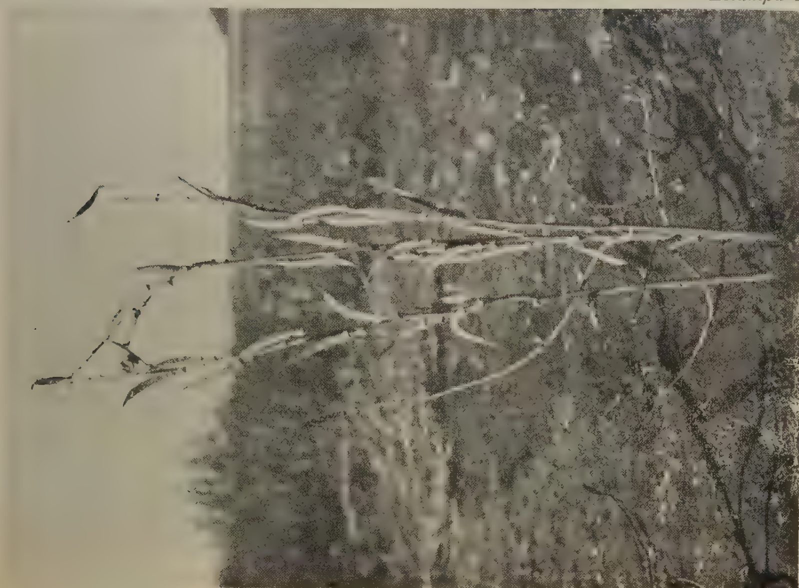
O



P



Q



R



S



T



U


V
W
X
Y



Vol. 8 — Art. 5 Dezembro de 1937

INFLUENCIA DA AGITAÇÃO SOBRE O DESENVOLVIMENTO DAS CULTURAS BACTERIANAS

POR

O. Bier e N. Planet

Trabalho do Instituto Biologico de S. Paulo

No decurso de pesquisas sobre a formação de bacteriophago em culturas agitadas de uma amostra lysogenica de *B. anthracis,* baseadas nos trabalhos de HALLAUER (3) a respeito da influencia da agitação sobre a regeneração do bacteriophago, tivemos a attenção despertada para a grande differença existente na intensidade da vegetação entre as culturas agitadas e as mantidas em repouso.

Em trabalhos já antigos (1911-1914), LUCET (5), estudou o effeito da agitação no desenvolvimento das culturas de uma série de bacterias, em particular do *B. anthracis,* verificando um crescimento approximadamente 2 a 4 vezes mais intenso, nas culturas agitadas. Facto interessante assignalado por LUCET, é que as culturas de bacterias anaerobias, como os bacillos do tetano e do carbunculo symptomatico, são tambem estimuladas pela agitação, o que levou esse pesquisador a excluir a aeração dos meios agitados como causa do incremento de vegetação observado.

A grande nitidez com que se verifica essa influencia da agitação (em nossas experiencias, com certos germes, como o *B. anthracis,* pudemos observar por vezes uma differença de 20 vezes na intensidade da vegetação) levou-nos a estudar mais aprofundadamente esse phenomeno que, tanto do ponto de vista theorico, quanto do ponto de vista pratico, poderia apresentar aspectos dignos de interesse.

Material e technica — No presente trabalho foram estudadas 27 especies de bacterias aerobias e 6 anaerobias, amostras isoladas e identificadas em nosso laboratorio, ou de outras procedencias (N. C. T. C., Inst. Rob. Koch, Inst. Bacteriologico de Buenos Aires).

Os meios de cultura empregados foram o caldo simples, o caldo TAROZZI, e para as pesquisas de fermentações, o meio de BARSIEKOV liquido, com indicador ANDRADE, preparados segundo a technica usual.

Para a pesquisa de acetoina usamos a technica recentemente descripta por BARRITT (3), cujo excellente resultado tivemos occasião de confirmar: a 1 cc. de cultura de 3 dias em caldo glycosado phosphatado (peptona WITTE), addicionar 0,6 cc. de sol. alcoolica naphtol 5 % e 0,2 cc. de KoH 40 %. Em 2-5 min. desenvolve-se, quando a reacção é positiva, coloração rosea ou vermelha.

Os meios foram distribuidos em porções de 5 cc. em tubos PYREX de 20 mms. de diametro.

A agitação foi feita por meio de um agitador do typo commumente usado para a reacção de KAHN, collocado no interior de um quarto-estufa a 37º.

Para as experiencias em anaerobiose, os tubos de meio recentemente regenerados pela fervura, logo após a semeadura, foram submettidos a um vácuo de 650 mms. de Hg. e fechados á lampada. Esta technica nos proporcionou resultados mais uniformes do que a de collocar uma série de tubos em járra anaerobia.

RESULTADOS

Procuramos primeiramente confirmar e ampliar os resultados de LUCET relativos á estimulação do crescimento das bacterias aerobias pela agitação.

Em duas séries de tubos contendo 5 cc. de caldo simples, foram semeadas quantidades iguaes de cultura de 9 differentes amostras de bacterias aerobias, sendo 3 de *B. anthracis,* 3 de *B. coli,* 3 de bacillos de *Flexner.* Uma série é mantida em repouso e a outra é agitada durante 20 horas na estufa a 37º.

A differença de intensidade de crescimento observada figura na tab. 1, em que 1 representa uma turvação de cerca de 500 milhões de bacterias por cc. (determinações approximadas, feitas pelo nephelometro de MCFARLAND).

TABELLA 1

Intensidade do crescimento de culturas de germes aerobios agitadas ou mantidas em repouso.

Especie bacteriana	Designação da amostra	Intensidade da vegetação após 20 hs.		Relação entre as duas intensidades de crescimento
		(1) nas culturas em repouso	(2) nas culturas agitadas	
B. anthracis. .	Wil	4	20	1/5
»	Aragão	4	20	»
»	Pelotas	4	20	»
E. coli. . . .	Diva	20	40	1/2
» . . .	Leal	20	40	»
» . . .	Edith	20	40	»
S. paradysenteriae, var. Flexner . .	D 9, Y	6	20	1/3
»	Cable, W.	6	20	»
»	Z.	6	20	»

Ha, por consequencia, uma estimulação de crescimento pela agitação, que varia de 2 a 5 vezes em relação á vegetação das culturas em repouso. Em outras experiencias com o *B. anthracis,* pudemos obter ainda uma differença muito maior, de 10 e mesmo de 20 vezes.

Mais curiosa nos pareceu ainda a verificação, assignalada por LUCET, de que os germes anaerobios são igualmente estimulados pela agitação; por isso tratamos tambem de confirmal-a.

A 2 séries de tubos contendo 5 cc. de caldo-TAROZZI foram semeadas quantidades iguaes de culturas de seis especies differentes de anaerobios. Após 20 horas de incubação a 37º os resultados obtidos na série em repouso e na série agitada foram os seguintes (tab. 2);

TABELLA 2

Intensidade do crescimento de culturas de germes anaerobios agitadas ou mantidas em repouso.

Especie bacteriana	Intensidade da vegetação após 20 hs.		Relação entre as duas intensidades de crescimento
	(1) nas culturas em repouso	(2) nas culturas agitadas	
Cl. Welchi . .	4	8	1/2
Cl. histolyticus	2	8	1/4
Cl. sordelli . .	2	6	1/3
Vibrião septico	2	4	1/2
Cl. chauvei . .	1	1	1/1
Cl. sporogenes	2	4	1/2

Ha, effectivamente, tambem nas culturas agitadas de anaerobios, uma estimulação de crescimento de 2 a 4 vezes em relação á intensidade de crescimento das culturas não agitadas. ([1]).

A verificação desse facto, por nós confirmado, levou LUCET a excluir o factor aeração como causa da estimulação do crescimento nas culturas agitadas e a admittir a hypothese de uma melhor utilização das substancias nutritivas, quer por um contacto mais intimo com o meio de cultura incessantemente renovado, quer por uma diffusão maior de productos de desassimilação, de effeito inhibidor.

Para bem esclarecer esse facto impunha-se uma experiencia directa, que consistia em verificar qual a influencia da agitação em boas

([1]) É interessante notar que essa estimulação do crescimento das especies de anaerobios acima ennumeradas, só obtivemos em caldo-Tarozzi (sem vaselina). Em caldo simples glycosado ou em caldo-Tarozzi no qual o fragmento de figado foi envolvido por papel de celofane, não obtivemos crescimento apreciavel, quer nas culturas agitadas, quer nas culturas em repouso (5 cc. de meio em tubos de 20 mms. de diametro).

condições de anaerobiose (tubos sellados á lampada após se ter feito o vácuo). Os varios ensaios realizados podem ser resumidos como na seguinte experiencia typica (tab. 3).

TABELLA 3

Intensidade da vegetação de germes aerobios e anaerobios, agitados ou em repouso, em condições de anaerobiose.

Especie bacteriana	Intens. da vegetação após 20 hs.		Relação entre as duas intensidades de crescimento
	(1) Nas culturas em repouso	(2) Nas culturas agitadas	
B. anthracis - Wil . .	4	4	1/1
B. coli - Edith . .	4	4	1/1
Vibrião septico . . .	4	4	1/1

Os resultados obtidos, ao contrario da supposição de LUCET, tendem a demonstrar a importancia da aeração nas experiencias com culturas agitadas, o que simplifica bastante a explicação do phenomeno, ao menos para os germens aerobios.

Quanto á estimulação dos germens anaerobios e que poderia parecer á primeira vista um phenomeno paradoxal, uma possivel explicação é suggerida tendo-se em conta uma série de factos. E' sabido que o effeito deleterio do oxygenio livre do ar no crescimento dos anaerobios póde ser evitado pela addição, aos meios de cultura, de certas substancias que absorvem o oxygenio, criando um definido potencial de reducção, como um fragmento de figado (TAROZZI), o glutathion (CALLOW) a cysteina (QUASTEL & STEPHENSON), etc. Além disso, admitte-se que as culturas de anaerobios expostas ao ar morrem em consequencia do accumulo de H^2O^2, si bem que tenham sido negativas as pesquisas de MCLEOD & GORDON, CALLOW, etc., no sentido de aerobizar os anaerobios pela addição de catalase ao meio de cultura.

Póde-se imaginar, entretanto, que, sob a influencia da agitação, pequenas quantidades de H^2O^2 que se geram no meio de cultura se vão desprendendo á medida de sua formação e que a agitação representa, pois, um meio mechanico protector contra o accumulo de peroxydo.

Realmente, é facil demonstrar que a agitação, nas condições de nossas experiencias, faz diminuir sensivelmente a quantidade de agua oxygenada existente em solução: 25 cc. de differentes diluições de agua oxygenada MERCK (20 vol. de O_2) são collocadas em 2 séries de tubos, uma de tubos finos de 10 mms. e outra de tubos grossos, de 20 mms. de diametro. A série de tubos finos é mantida em repouso e a de tubos grossos é agitada durante 2 horas na estufa a 37°. Faz-

se, então, a pesquisa de H^2O^2 por meio da technica seguinte, utilizada por Avery & Morgan (1): a cada tubo, addiciona-se um pequeno cubo de batata crúa e 0,1 de sol. acetica saturada de benzidina. A reacção positiva é assignalada pela coloração azul que se desenvolve no fragmento de batata (tab. 4):

TABELLA 4

Pesquisa de agua oxygenada em duas series de diluições: uma, agitada e a outra mantida em repouso.

Tubos	Serie de tubos finos (em repouso)	Serie de tubos grossos (agitada durante 2 hs.)	Diluições de agua oxygenada
1	++++	++	1/10
2	+++	—	1/100
3	++	—	1/1000
4	+	—	1/10000
5	—	—	1/100.000

Outro aspecto do problema, que tambem procuramos investigar, foi o de saber si, sob a influencia da agitação, não haveria uma estimulação do metabolismo da propria bacteria, levando-a a effectuar fermentações que normalmente não produz.

Nesse sentido foram feitas 2 séries de experiencias: uma relativa á producção de acido nas fermentações de açucares (glycose e arabinose) por varias especies de salmonellas, e outra relativa á producção de acetoina (reacção de V. P.) por varias bacterias.

Os resultados das fermentações de açucares em culturas em Barsiekov liquido com indicador Andrade, agitadas e em repouso, após 24 horas a 37°, estão resumidos na tab. 5:

TABELLA 5

Fermentação de açucares por varios germes aerobios em culturas agitadas ou mantidas em repouso.

Especie bacteriana	Glycose		Arabinose	
	(1)	(2)	(1)	(2)
Paratypho A . . .	+	+	++	+
Paratypho B . . .	++	+	++	—
Breslau	+	+	++	++
Suipestifer America	++	+	—	—
Gärtner-Jena . . .	+	+	++	—
S. pullorum . . .	—	—	++	—
S. gallinarum . .	+	+	—	—

(1) Serie em repouso (2) Serie agitada + róseo pallido ++ vermelho vivo.

Verifica-se, pois, que, nas culturas agitadas, apezar da maior exuberancia da vegetação, as fermentações são menos intensas que nas culturas mantidas em repouso.

Este facto é tanto mais suggestivo quanto, segundo demonstraram recentemente HOHN & HERRMANN, as fermentações no genero *Salmonella,* para as especies que possúem hospedeiro estricto, como, por exemplo, os bacillos paratyphicos A e B, GÄRTNER, *pullorum* e *gallinarum,* são dependentes da exuberancia de vegetação, processando-se melhor nos meios ricos em substancias nutritivas.

Si a estimulação do crescimento pela agitação fosse relacionada a um melhor aproveitamento do material nutritivo, era de esperar que as fermentações fossem mais intensas nas culturas agitadas. O inverso, entretanto, é o que se verifica e está em concordancia com a idéa de uma maior aeração do meio agitado, visto que se sabe, serem as fermentações menos intensas nos meios superoxygenados, o que se traduz na expressiva frase de PASTEUR: «La fermentation est la vie sans air».

Resultado analogo foi observado quanto á producção de acetoina após 24 horas, em caldo glycosado phosphatado, por varias especies bacterianas (tab. 6).

TABELLA 6

Producção de acetoina em culturas agitadas ou em repouso.

Especies bacterianas	Reacção de Voges-Proskauer (technica Barritt):	
	(1) Culturas em repouso	(2) Culturas agitadas
B. subtilis	++	+
B. cereus	+	—
B. mesentericus . . .	++	++
E. coli "Edith" . . .	—	—
» "Lacorte" . .	—	—
» "Diva" . . .	—	—
A. aerogenes "445". .	++	—
» "446". .	++	—

Não se forma, pois, acetoina nas culturas agitadas de *A. aerogenes,* apesar do germe se ter desenvolvido com uma intensidade cerca de 3 vezes maior que nas culturas em repouso. Como na formação de acetoina ha uma série de phenomenos de oxydação (2,3 butyleno-glycol, acetoina, diacetyla), podia-se pensar que, no meio agitado, fosse ultrapassada a phase de acetoina; porém tal não é o caso, porquanto a

reacção do V. M., praticada nestas culturas, foi negativa, indicando, portanto, ausencia de fermentação.

SUMMARIO

Foi estudada sob varios aspectos a influencia da agitação no desenvolvimento das culturas bacterianas. A intensidade de crescimento é cerca de 2 a 5 vezes maior nas culturas agitadas do que nas conservadas em repouso. Este facto se observa tanto para culturas de aerobios (*B. anthracis, B. coli, A. aerogenes, B. de Flexner*), quanto para anaerobios (*Cl. welchi, Cl. histolyticum, Cl. sordelli*, vibrião septico, *Cl. sporogenes*), em confirmação dos trabalhos já antigos de LUCET (1911-1914).

Contrariamente, porém, á opinião deste autor, o mechanismo da estimulação do crescimento pela agitação deve, por uma série de argumentos apresentados neste trabalho, ser attribuido a uma superaeração do meio: a) em tubos de caldo recentemente fervidos, semeados, submettidos a um vacuo de 650 mms. de Hg e fechados á lampada, não ha differença de intensidade de crescimento entre culturas de anaerobios e facultativos, quando agitadas ou mantidas em repouso. b) a intensidade das fermentações é menor nas culturas agitadas (producção de acido em glycose e arabinose por varias especies de salmonelas; producção de acetoina pelo *A. aerogenes*).

E' suggerida a hypothese de que o maior crescimento dos anaerobios nas culturas agitadas seja devido á expulsão da H^2O^2 que se forma nas culturas expostas ao ar á medida de sua formação.

ABSTRACT

This paper deals with the study of the influence of agitation on the development of bacterial cultures.

In shaken cultures the intensity of growth is about 2 to 5 times greater than in those not submitted to agitation.

This fact can be observed both with aerobic and anaerobic bacteria (B. anthracis, B. coli, A. aerogenes, B. Flexner, Cl. welchi, Cl. hystolyticum, V. septico, Cl. sporogenes), confirming LUCET'S *previous observations. 1911-1914) on this subject.*

However, we don't agree with LUCET'S *views excluding the role played by super aeration of the média in the shaken cultures. Our opinion is based upon the following facts. First: when the bacteria are inoculated in recently boiled média, after undergoing a vacuum of 650 mms. Hg and shaking, no differences in intensity of the growth are detected among the shaken and non shaken cultures, thus showing that the estimulating effect of the shaking does not take place in*

absence of air. Second: the biochemical activities of the bacteria are smaller in shaken than in non shaken cultures (acid production from glucose and arabinose of several species of Salmonella; acetoin production by A. aerogenes).

As a tentative hypothesis for the explanation of the differences found among the shaken and non shaken cultures of the anaerobic bacteria the gradual elimination of H^2O^2 is suggested.

BIBLIOGRAPHIA

1 — AVERY, V. I. e MORGAN, A. J. — 1924 — The occurrence of peroxyde in cultures of pneumococcus. *J. exp. med.* **39**, 275-287.

2 — BARRITT, M. M. — 1936 — The intensification of the Voges-Proskauer reaction by the addition of a-naphtol. *J. Path. and Bact.*, **42**, 431-454.

3 — HALLAUER, C. — 1933 — Die übertragbare Lyse als Funktion des bakteriellen Gasstoffwechsels. 1. Mit. Ueber Aktivierung der übertragbaren Lyse durch Sauerstoff. *Zentralbl. f. Bakt.*, **129**, 265-274.

4 — HOHN, J. e HERRMANN, W. — 1936 — Der Kulturtyp der Erreger der Typhus-Paratyphus-Gruppe und seine Bedeutung für die Standortsgebundenheit. *Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrank.*, **117**, 722-741.

5 — LUCET, A. — 1914 — Nouvelles recherches sur l'influence de l'agitation des bouillons de culture sur le développement du Bacillus anthracis et de quelques autres microbes. *Recueil de méd. Vét.*, **91**, 137-148.

6 — MC LEOD, J. W. — 1930 — Bacterial Respiration. *in System of Bacteriology*, **1**, 263-288, Londres.



Vol. 8 — Art. 6 Dezembro de 1937

A ENCEPHALOMYELITE INFECCIOSA DOS EQUIDEOS NO BRASIL

POR

V. Carneiro

Trabalho do Instituto Biologico de S. Paulo

Com as estampas 19-26

Em Março do corrente anno chegaram ao Serviço de Defesa Sanitaria Animal do Instituto informes sobre a occurrencia, no municipio de Tatuhy, neste Estado, de uma doença de symptomatologia nervosa, victimando animaes da especie equina.

De entendimento do chefe do Serviço de Defesa Animal com o Director do Instituto resultou chegar ao nosso conhecimento a occurrencia desses casos; fomos então encarregados de examinar de perto a doença em questão, a qual, como se verá, surgiu com um caracter epizootico mais ou menos grave. Procuramos desse modo acompanhar a evolução clinica dos casos, reunir o maior numero possivel de dados que pudessem ter relação com a doença, e sobretudo colher material de exame e de estudo que pudesse servir á identificação da doença e esclarecimento de sua etiologia, unico meio de orientar, na grande maioria das vezes pelo menos, uma therapeutica racional, ou uma prophylaxia efficaz.

Até agora assignalada e estudada em diversos paizes europeus, principalmente na Allemanha e na França, conhecida e estudada de modo intenso nos Estados Unidos, onde causa prejuizos graves e permanentes, identificada na Argentina, — a encephalomyelite do cavallo não foi ainda no Brasil objecto de nenhum trabalho de identificação e de estudo. As unicas referencias que se encontram na literatura nacional, possivelmente relacionaveis ao fóco infeccioso que nos foi dado examinar, datam de 1913 e 1915, epoca em que a etiologia desse grupo de doenças dos equideos era ainda um verdadeiro cáos. São, por isso mesmo, apenas observações clinicas, sem que um estudo experimental ou mesmo uma observação longa tivesse sido realizada. São de DUPONT (2-3) e de URBAIN (28) as descripções de casos de uma doença de symptomatologia nervosa que parecia frequente no Paraná, conhecida entre os criadores pela denominação de «peste de cegar», expressão que allude a um symptoma mais ou menos frequente nesse grupo de doenças.

E' o resultado dos primeiros estudos realisados em torno desse fóco epizootico surgido em Tatuhy, que vamos aqui relatar. Do ma-

terial nervoso colhido de animaes doentes no fóco foi-nos possivel, com effeito, isolar um agente infeccioso, filtravel, collocando assim a doença no grupo das encephalomyelites produzidas por virus, identificadas na França, na Allemanha, nos Estados Unidos, na Argentina e na Russia.

Para facilidade de exposição parece-nos conveniente dividir em duas partes o presente trabalho. Na primeira será examinado o estudo clinico. Consagraremos a segunda ao exame dos dados experimentaes embóra incompletos, até agora reunidos, colhidos de ensaios realisados e que autorisam, como se verá, uma conclusão.

I — ESTUDO CLINICO

No exame do fóco epizootico tivemos desde o inicio a companhia do dr. J. MOREIRA, que nos prestou valiosa collaboração em todas as viagens ao local. Do mesmo modo tivemos, algumas vezes, o concurso do dr. W. CARDIM e depois do dr. C. TROISE, que realisaram autopsias para exame do material.

Tinhamos desde o inicio o objectivo de examinar o maior numero possivel de casos, colhendo dados tão completos quanto nos facilitassem as circumstancias, e visavamos principalmente colher material do maior numero de animaes victimados, para tentar com maiores probabilidades de exito um resultado interessante. A experiencia da literatura reunida acerca de doenças identicas ou semelhantes ensina, com effeito, a importancia desse particular. A's causas communs de insuccesso no isolamento do agente infeccioso, autopsias tardias, colheita impropria do material, más condições de conservação, aqui se allia a autoesterilisação do virus no cerebro do cavallo, o que é um obstaculo ás vezes sério.

As condições primitivas em que ainda se pratica a criação de equideos no municipio, alliadas ao facto de serem reduzidos os effectivos, não nos permittiram uma documentação mais completa, que exigiria material mais abundante de trabalho. Os equideos se contam, com effeito, na maioria das propriedades ruraes, fazendas, sitios, por dezenas, ou mesmo por alguns individuos, e são raras as propriedades com 50-60 animaes. O caracter epizootico de certo modo grave, da doença, se assignala pois, não porque perdas muito vultósas se tenham verificado, mas pelo simples facto de em alguns sitios se constatar que em 5-6 animaes existentes, 2-3-4 eram victimados, depois de revelarem os mesmos symptomas da doença. Dados adiante referidos darão uma idéa precisa nesse sentido.

Visitamos numerosas propriedades, em diversas direcções, no sentido de termos informes directos, de variadas fontes, relativos á incidencia, symptomas mais grosseiros verificados, condições que cercam o apparecimento do mal, etc..

Incidencia. Prejuizos verificados. — Das numerosas propriedades inspeccionadas, inclusive algumas em que a occurrencia do mal não fôra assignalada, outras em que a doença grassára em epoca anterior á nossa chegada, reunimos dados sobre a incidencia e numero de animaes victimados. Tem-se a impressão de que é muito variavel a incidencia: parece oscillar entre 65 % e 15 % dos animaes da propriedade. Assim, em sitios de 6 animaes apenas, 4 morrem com os mesmos symptomas. Em uma propriedade maior, com 60 cabeças de equinos, o numero de casos verificados é de 9-10.

O numero total de casos occorridos no espaço de um mez e meio, na região que nos foi possivel percorrer, sóbe a cerca de 60 pelo menos. E' bem possivel que perdas mais numerosas se tenham verificado. Isto é perfeitamente explicavel quando se considera que o municipio possue numerosas propriedades de pequena extensão, havendo numerosos sitios de accesso difficil. A existencia de casos nesses locaes escapa ao nosso conhecimento. Além disso, em duas direcções onde deviamos ver casos novos, as chuvas e a ausencia de estradas não nos permittiram informes directos.

A unica *especie* animal sensivel á infecção natural foi, certamente, nas condições observadas, o cavallo. Em varias propriedades havia burros em condições identicas, embora em menor numero, e não pudemos ter nenhuma referencia á occurrencia da doença entre muares. E' no entanto, provavel que os muares sejam sensiveis, a julgar pelos dados relativos á doença semelhante estudada nos Estados Unidos (12-30). Os bovinos, nas propriedades visitadas, no mesmo pasto, ou em pastos visinhos, nunca adoeceram.

A *edade* não parece ter nenhuma influencia na receptividade do animal. Entre outros exemplos nesse sentido destacamos o mais typico, de uma criação numerosa. Em um effectivo de 60 animaes houve 10 casos; destes, cinco estão distribuidos pelas seguintes edades:

um potro de 4 mezes
» » » $1^1/_2$ anno
» » » 2 annos
uma egua de 5 annos
» » » 6 annos

Os outros cinco casos se verificaram em animaes de dois annos aproximadamente, que tiveram um restabelecimento relativo, com

sequellas mais ou menos definitivas, depois de revelarem symptomas typicos e de intensidade variavel. Voltaremos ao exame desses casos.

Em relação ao *local* não nos foi possivel um conjuncto de dados interessantes. Novas observações devem ser feitas. Parece, no entanto, que a doença tem predileção pelas propriedades ou invernadas visinhas de cursos d'agua. Varias propriedades, pelo menos, estão em terrenos percorridos pelo rio Sorocaba, que atravessa o municipio em trajecto sinuoso, deixando em algumas pastagens zonas mais baixas e mais humidas.

No que concerne á *época do anno,* ou á *influencia das estações,* é cedo ainda para tirar conclusões. A impressão que decorre da observação feita no local é, no entanto, digna de registro: o surto epizootico teve seu inicio em fins de Fevereiro e começo de Março; os casos foram examinados na segunda quinzena de Março, e em Abril a doença estava em declinio. Todo esse periodo coincidiu com uma época de intenso calor, raramente registrado em S. Paulo. E' um dado que merece ser posto em relevo, porque coincide de modo perfeito com os informes abundantes, reunidos de inqueritos sobre as epizootias periodicas de encephalomyelite, estudadas nos Estados Unidos (6-12), surgindo no verão e desapparecendo á entrada do frio. Na Argentina, do mesmo modo, é durante o verão, Janeiro, Fevereiro, que a epizootia resurge (26). E' importante esse ponto porque deve estar relacionado com a epidemiologia da doença (10). Têm sido vistos ultimamente casos provaveis de encephalomyelite infecciosa fóra do periodo de verão (1), mas desde o trabalho fundamental de MEYER, HARING e HOWITT (12), precedido nesse particular por numerosas observações clinicas e completado por inqueritos posteriores, o caracter periodico dos surtos tem sido posto em relevo. Nossas supposições se verificaram em relação ao surto infeccioso examinado quando a entrada do frio trouxera lento desapparecimento do mal. E' possivel que essa influencia da estação quente não esteja relacionada apenas com o aspecto epidemiologico da doença. O calor forte e a acção directa dos raios solares sobre os animaes no pasto, sem abrigo de sombras, parece ter influencia nociva, diminuindo-lhes resistencia.

De 6 casos de que pudemos obter material para exame, colhido em cinco propriedades diversas, um apenas forneceu resultado permittindo proseguir no seu exame. O caso que nos forneceu resultado satisfactorio é o de um potro de 4 mezes, de uma propriedade em que dez casos se verificaram. Foi colhido material apenas de cerebro, unico orgão que chegou ás nossas mãos nesse caso, tendo-se dado a morte do animal durante a noite, em local distante da séde da propriedade.

Symptomatologia. — Em criação extensiva e dispersa, como no caso presente, é difficil reunir dados de ordem clinica que permittam reconstrucção do cortejo de symptomas. A observação de um certo numero de casos, em periodos diversos, desde os symptomas iniciaes até os mais graves, nos casos fataes, ou até as sequellas persistentes nos casos restabelecidos, permitte, no entanto, uma reconstrucção. Os informes de criadores, accordes e bem repetidos por varias pessoas, confirmam e completam os dados verificados.

A doença se manifesta, em geral, pelas perturbações locomotoras, que são de inicio imprecisas: o animal tem a principio tropeços frequentes, seguidos de andar pouco firme, ou mesmo irregular. A esses primeiros signaes vagos, succedem-se outros mais claros: o animal manifesta rigidez na marcha e depois perturbações do equilibrio e incoordenação dos movimentos. Os primeiros indicios typicos nesse sentido são dados pelas modificações do aprumo e pela posição anormal dos membros. Estes, ora os dianteiros, ora os trazeiros, são mantidos abertos, fóra da posição normal, num trabalho de assegurar o equilibrio compromettido, do corpo. Quando as perturbações por esse lado são mais intensas, o equilibrio é assegurado ainda, pelos movimentos do pescoço, em extensão, e da cabeça em posição anormal. A principio não parece haver propriamente paresias, ou paralysias, mas apenas uma fraqueza accentuada, que vae até um estado de prostração. As perturbações do equilibrio são em seguida mais claras, os membros são mantidos excessivamente abertos e a tendencia para quéda se accentúa.

A ataxia locomotora franca dá um quadro typico de deslocamento alternado e anormal dos membros, sendo o passo lento, difficil e penoso. O andar torna-se cada vez mais difficil, tendendo o doente para a immobilidade absoluta. Nesse momento é necessario tocar, ou mesmo forçar o animal para que elle se desloque. Elle o faz em passos desordenados, aos arrancos, tentando realizar o apoio do corpo ou da cabeça no primeiro obstaculo, cerca, parede, tronco, cocho, etc.. Nesse estado a quéda é quasi sempre a consequencia, se um ponto de apoio lhe falta ou céde e si o estado do animal é grave. O deslocamento se faz, além disso, a custo, o corpo se projectando para a frente como um todo inerte, sobre membros frouxos, desordenados. Qualquer esforço provoca cansaço accentuado e o animal é preso de fadiga, a respiração accelerada e forçada. Ás vezes suóres banham o corpo. O emmagrecimento rapido nesses casos é impressionante. Os movimentos lateraes e em volta são difficeis. Paresias, ou paralysias sobre vêm e o animal deita-se em decubito esterno-abdominal, ou em decubito lateral completo, para não mais se levantar. Nessa transição

da posição de pé para o decubito lateral completo, o animal pode cahir ou deter-se nas posições mais anormaes, como na de cão sentado.

A esses symptomas se associam, de modo mais ou menos intenso, com maior ou menor frequencia, com maior ou menor rapidez, os symptomas de encephalite, propriamente. Estes são ás vezes vistos de inicio, precedendo o quadro clinico acima esboçado. O animal mostra-se apathico, immovel, somnolento, as palpebras semicerradas, insensivel ás moscas e aos ruidos, o pescoço distendido, a cabeça pendida, inclinada para fóra da linha do corpo e mais tarde apoiada pela frente, ou por uma de suas faces lateraes, á parede. O apoio da cabeça contra o obstaculo se faz ás vezes de modo permanente, com força, resultando dessa posição, escaras que se notam principalmente ao nivel da arcada orbitaria.

A esse estado de immobilidade succedem-se accessos de excitação mais ou menos intensos: o animal torna-se inquieto, excitado, bate a cabeça, produzindo escoriações ao nivel das saliencias osseas, lesões da lingua, etc.. Durante esse periodo de excitação o cavallo projecta-se inconsciente contra obstaculos, ferindo-se em diversas regiões, caminhando sem direcção, derrubando ou forçando os obstaculos que encontra.

A ultima phase é assignalada pelo decubito lateral completo, o pescoço ás vezes em posição anormal, virado sobre o tronco. Tremores fibrilares são vistos em certos grupos. Depois de cahido o animal bate os membros desordenadamente, em contrações fortes, atirando-os ou contra o chão, ou uns contra os outros, provocando escoriações. O solo é escavado por esses movimentos em uma area extensa em torno do doente, a grama arrancada. Forma-se ás vezes uma escavação de 20-30 cms. de profundidade. REMLINGER e BAILLY (24-25), que assignalam esse symptoma na infecção experimental do cavallo com o virus argentino, chamam a essas contracções «movimentos de pedalagem» e observam que se forma em torno do doente, em linha curva, uma verdadeira trincheira. E' um symptoma mais ou menos constante, que se encontra nas descripções classicas (4-30), mas não nos parece especial á doença. Vimol-o em um caso natural e em um caso experimental.

Um symptoma mais ou menos frequente é a marcha em circulo.

O apetite é em geral conservado, mas ha difficuldade de deglutição, mesmo de liquidos e, ás vezes, paralysia do maxillar, do labio inferior, cahido, os dentes mantidos cerrados. Paralysia do recto, dos intestinos, da bexiga, com coproestase e retenção de urina. A autopsia mostra uma bexiga distendida e a urina, em um caso experimental, continha quantidade apreciavel de glycose.

A visão é mais ou menos compromettida, e dahi, certamente, o nome commum de «peste de cegar» dado á doença em certas regiões.

Não dispomos, por ora, de dados que permittam desdobrar o estudo clinico em formas clinicas, encephalica, myelitica, mixta, sub-aguda, como tem sido feito em certas doenças do mesmo grupo (14-15-16). A duração da doença varia em media de 2 a 7 dias e mesmo mais. Parece haver formas sub-agudas que evoluem dentro de 24 horas.

Assignalemos ainda que os accessos de excitação, interrompendo os longos periodos de calma, podem dar quadros impressionantes, quando o animal se projecta como louco, caminha longos trechos, batendo-se, quebrando cercados frageis, recuando, etc..

Essa longa descripção do quadro clinico, completada e confirmada pela observação de casos experimentaes no cavallo e em animaes de laboratorio, que serão examinados mais longe, nos dispensará de mais longa referencia aos symptomas constatados em diversos casos.

O caso mais typico e que melhor observação nos forneceu, o primeiro, justamente que nos foi dado ver, póde ser assim apresentado:

Cavallo nacional, castanho, de 6 annos, em regimen de pasto, propriedade do Snr. E. C. do sitio Bom Retiro, Bairro do Matto Secco, Rio Sorocaba.

Os primeiros symptomas foram notados no dia 14-3-37 pela manhã: modificações do olhar, excitado; perturbações das attitudes e da marcha.

Foi visto em 16-3-37, dois dias e meio depois de inicio do mal. Registramos o seguinte quadro: E' encontrado na cocheira, encostado fortemente á parede, o corpo vacilante sobre os membros frouxos. A cabeça pendida, apoiada á parede pela sua face anterior e pela lateral esquerda. Ao nivel da arcada orbitaria correspondente ha uma escoriação produzida pelo attricto contra a parede. Respiração dyspneica, sendo a inspiração ruidosa, acompanhada de movimentos violentos das costelas, muito visiveis sob a pelle distendida, do corpo emmagrecido. Trismus, impossibilidade de alimentação e deglutição de liquido lenta e difficil. Nenhuma perturbação apreciavel da visão. Ligeiros tremores fibrilares de certos grupos musculares ao nivel do pescoço e da espadua. Cabeça baixa, olhos semicerrados; o animal, immovel, somnolento, apathico, indifferente a tudo, como preso de soffrimento intenso.

A marcha é forçada e penosa. Puxado ou tocado, as pernas são vacilantes, o andar cambaleante, tropeçando, cruzando os membros, ou mantendo-os muito abertos; o pescoço distendido, a cabeça pendida. A difficuldade de movimentos é impressionante. A columna vertebral forma um todo rijo, o pescoço em extensão, sendo todo movimento lento, penoso, desordenado. Qualquer esforço traz intensa fadiga, havendo acceleração respiratoria e levando a um estado de cansaço que conduz á quéda. Os movimentos cardiacos são accelerados nesse momento.

Paralysia da bexiga e do recto. Temperatura no momento, 40°0.

Em 18-3-37 o animal é visto de novo pelo dr. TROISE, já em decubito lateral completo, tendo tido melhoras acentuadas, mas enganadoras, sob influencia de injecções de uroformina na dose de 20 grs. diarias, desde o segundo dia. Temperatura 37°3. E' sacrificado. Duração de 4 dias portanto.

Na mesma propriedade outro caso evoluiu em 6 dias.

Domina o quadro clinico, como se vê, o conjuncto de symptomas que caracterizam uma encephalomyelite de descripção classica, com somnolencia, immobilidade, cabeça pendida, olhos semicerrados, rigidez, ataxia, perturbações locomotoras e do equilibrio, etc..

Ás expressões antigas de meningite cerebro espinal, meningo-encephalo-myelite, parece preferivel a de encephalomyelite infecciosa, usada por Moussu e Marchand (14-15-16), pelos autores americanos que estudaram a encephalite americana do mesmo modo do ponto de vista clinico, experimental e histologico (6-8-9-11-12-13), e pelos autores que estudaram a doença de Borna (17).

São frequentes os casos em que os symptomas retrocedem e o animal resiste, ficando mais ou menos restabelecido. Perduram no entanto, lesões ás vezes irreparaveis, traduzidas por perturbações da visão, disturbios locomotores, attitudes anormaes. Em uma das propriedades visitadas, a mesma que nos forneceu material de resultado positivo por inoculações, vimos tres potros que nos foram mostrados como curados. Apresentavam no entanto a visão compromettida, além de indicios de ataxia e de perturbações locomotoras evidentes. Alguns casos de cura, que não esses, poderiam ser attribuidos á medicação de uroformina, usada na falta de medicação especifica, — si em outras propriedades o mesmo não tivesse verificado sem medicação alguma, ou com o concurso de sangrias que constituem ainda, entre nós, como por toda parte, a medicação heroica do homem do campo. Esses casos que reclamam prudencia na apreciação dos resultados de productos ditos especificos, encontram exemplos semelhantes nas epizootias americanas, nas quaes apenas cerca de 50 % dos casos têm curso fatal (12).

Diagnostico — Não é nosso objectivo entrar em detalhes a respeito do diagnostico. Queremos apenas referir alguns pontos. Tivemos opportunidade de ver, no primeiro caso observado, um caso typico, que vae acima descripto. Esse facto decidiu, em grande parte, o diagnostico clinico, pois seria imprudente julgar atravez de informes incompletos ou confusos. Constatamos logo em seguida, tres casos, restabelecidos, com sequellas definitivas, o que era em segundo dado de valor. O caracter epizootico é um terceiro dado de interesse, attingindo a doença propriedades varias, proximas ou distantes. Numerosos outros casos foram vistos depois em diversos estados de evolução. O que caracterisa as encephalomyelites infecciosas, do ponto de vista clinico, é um quadro em que dominam os symptomas de encephalite propriamente, associados aos de ataxia locomotora de paralysia e de perturbações do equilibrio. Tudo isso ahi estava e o caracter epizootico era manifesto.

Não nos parece ainda opportuno fallar do diagnostico differencial com o botulismo, em que o genero de alimentação traz uma primeira indicação e a mortalidade alcança 70-100 %., havendo outros dados clinicos lembrados por varios autores (21-22-30).

A literatura mostra, além disso (13-14-15-16-21-22), a que ficaram reduzidas quasi todas as hypotheses de botulismo, de intoxicação, etc., para explicar a etiologia de doenças semelhantes.

II — ESTUDO EXPERIMENTAL

De 6 casos em que foi feita a colheita de material nervoso para estudo, em cinco propriedades diversas, apenas um forneceu resultado satisfactorio ás inoculações realisadas. Trata-se de material de um potro encontrado morto no pasto, pela manhã. Apenas a cabeça é trazida e ahi colhemos fragmentos de substancias nervosa do corno de Ammon, do bulbo, do cerebello, da camada cinzenta e branca dos hemispherios, da medulla cervical, da base do cerebro, dos nucleos opticos, de numerosos pontos emfim, com o objectivo de nos prevenirmos contra a possivel avirulencia de certas zonas, estudada em doenças nervosas do mesmo grupo, ou de grupo visinho, como é o caso da doença de AUJESKY, da raiva. O material colhido em liquido de Bedson, ou em glycerina, era invariavelmente inoculado em cobayas, e coelhos, de inicio, e depois igualmente em pombos, camondongos, tendo em vista os dados da literatura relativos ás doenças semelhantes estudadas na Europa, onde os virus encontraram no coelho o animal de eleição (14-17-20-29), na America do Norte, cujos virus isolados são transmissiveis em serie com melhores indicações na cobaya e no camondongo (9-12), na Argentina, cujo virus foi a principio estudado na cobaya e no pombo (26-26-a) e encontrou nestas especies os animaes especialmente sensiveis (25).

Os resultados se verificaram de modo nitido a principio, apenas em cobayas. As primeiras cobayas que nos forneceram resultado positivo: n.os 107 e 108, apresentaram symptomas 8 e 11 dias depois da inoculação sub-dural de 0.15 cc. de uma emulsão espessa de substancia nervosa. As primeiras passagens de material dessas duas cobayas deram resultados positivo apenas com cerebro da primeira, ao cabo de um periodo de incubação de 6-7 dias. Quatro cobayas inoculadas apresentavam aqui symptomas caracteristicos de encephalite, que serão descriptos mais adeante. As passagens realisadas são no entanto negativas, o que é surprehendente, sendo as inoculações feitas em cobayas, coelhos, pombos, ratos, cavallos e cão. Esses resultados parecem explicaveis pela auto-esterilisação, pois o cerebro de uma dessas cobayas revelou lesões de encephalite infecciosa. Todas essas

cobayas tiveram, no entanto symptomas typicos de encephalite, identicos aos symptomas depois verificados por passagens em serie, e o periodo de incubação de 6-7 dias, coincide com o que depois, pelos estudos proseguidos, se verificou ser regra nesses casos.

Voltamos a repetir as inoculações com material proveniente da cob. 107 e com material original do potro de Tatuhy. As inoculações foram de novo positivas em ambos os casos, com passagens positivas e com um periodo de incubação de 5-6-7 dias. Dahi por diante as passagens em serie são regularmente bem succedidas e contam-se actualmente em numero de 15, de material de varias cobayas.

Symptomatologia na cobaya — Tivemos ensejo de observar um grande numero de cobayas inoculadas com material de passagens em serie e com material de controle de inoculações em outras especies. O quadro clinico visto em cerca de uma centena de animaes póde ser assim resumido:

Em geral duas alternativas se verificam: ou o animal manifesta indicios da doença sob a forma de excitação, ou, o que parece mais frequente, surgem symptomas de apathia, somnolencia, immobilidade.

A excitação se revela pelas attitudes e pelos movimentos anormaes; inquietação, vivacidade exaggerada e, o que é mais caracteristico, o animal se desloca na gaiola de modo estranho, com rapidez, correndo desordenadamente de um lado para outro, excitado, ou amedrontado, mais veloz nos seus movimentos que de regra. Ás vezes esses indicios são muito vagos e de verificação difficil, pois o apetite é conservado. Si a porta da gaiola é deixada aberta, póde acontecer que numa dessas corridas o animal se projecte para fóra, cahindo ao sólo.

Em geral, no entanto, é uma phase tranquilla a que abre o quadro dos symptomas: a cobaya é encontrada encolhida a um canto, distante das outras, os pêlos arrepiados, somnolenta, palpebras semicerradas, indifferente, immovel, o pescoço contrahido, em bóla. Mais tarde a cabeça é mantida pendida, e depois apoiada á parede. Durante horas permanece desse modo, immovel, o corpo agitado de ligeiros tremores generalisados. Em seguida os symptomas de encephalite são mais manifestos e a cabeça é apoiada á parede, ou ao chão, torcida, fóra da linha do corpo, numa attitude typica e anormal, como mostram as photographias. Vira-se com frequencia, sempre na direcção para a qual está inclinada a cabeça, e póde mesmo ter uma tendencia para andar ou virar em roda. E', como se vê, uma forma encephalica caracteristica.

Surgem ás vezes, com maior ou menor frequencia, perturbações francas do equilibrio, durante as quaes, quando forçado a andar, o

animal o faz com difficuldade, desordenadamente, sem direcção, o corpo vacilando, cahindo com facilidade. Paresias ou paralysias ás vezes se installam depois.

Mais raramente, no entanto, dominam esses symptomas de perturbações do equilibrio e os de paresias ou mesmo paralysias, attingindo com frequencia o quarto posterior. O andar se faz com difficuldade, arrastando-se a doente sobre as patas trazeiras, ou sobre o ventre apoiado ao chão, os membros distendidos para fóra e para traz, em paralysia flacida completa. Esse é porém um symptoma mais raro.

Os dois quadros ás vezes se misturam, ou se superpõem.

Mais tarde o animal permanece em decubito lateral completo, agitando os membros em contrações frequentes, até a morte.

O periodo de incubação oscilla entre 3-4-7 dias. Póde mesmo descer a 2 dias, em cobayas pequenas de 200 grs. e mesmo de 150 grs., que tivemos necessidade de usar com frequencia nesses ensaios. O periodo de incubação de 7 dias é registrado em cobayas adultas de 470 grs.. O periodo de incubação mais longo que registramos foi de 10 dias, com material pobre em virus.

A evolução se processa em 24-36 horas e mais raramente, em 2-3 dias. Esses dados se referem á inoculação subdural, com 0 cc. 1 a 0 cc. 15.

Temos dados incompletos sobre a curva thermica na cobaya. Em duas tomadas diarias, com controles em cobayas normaes do mesmo peso, verificamos que cerca de 24 horas depois da inoculação ha uma elevação thermica de 0°5, indo até 1° cerca de 30 horas depois da inoculação. A temperatura é normal no momento em que surgem os primeiros symptomas, no 4.° - 5.° dia que se segue á inoculação. Essas verificações se approximam das que são obtidas por HURST (9) estudando o virus americano em 1936.

Filtração — Material de passagens em serie em cobayas, finamente triturado, foi deixado depositar, depois de diluido a 10 % em agua distillada. O liquido sobrenadante, diluido em cinco vezes o seu volume, foi filtrado em Berkefeld N, e inoculado o filtrado em cobayas. A filtração se processou rapidamente a uma pressão media de 30-40 mm.. Das 6 cobayas inoculadas, 3 apresentaram doença typica ao cabo de 6-7 dias de inoculação. Passagens são positivas. O controle de filtração foi feito com uma amostra de *Pasteurella avicida*. Utilisando velas Berkefeld W os primeiros ensaios foram irregulares, com um periodo de incubação de 15 dias. Esses ensaios são repetidos com cerebro de cobayas triturado em presença de areia fina, esteril, centrifugado o material rapidamente: 10 minutos, a baixa velocidade, cerca de 2.000 rotações por minuto. O liquido sobrena-

dante de uma emulsão espessa diluido em 5 vezes o seu volume de uma solução de phosphato de sodio, pH 7.2, é filtrado a 30 m.m. de pressão, durante 30 minutos. As 4 cobayas inoculadas tiveram symptomas typicos, com incubação habitual e passagens positivas.

Inoculação no camondongo — Tivemos resultados favoraveis, embora de inicio nem todas inoculações tenham sido bem succedidas, á dose de 0.03 cc. por via subdural. As ultimas inoculações já forneceram resultado em todos os animaes inoculados com virus de 9.ª e 10.ª passagens em serie na cobaya. Quatro camondongos inoculados, ao cabo de 3-4-6 dias de incubação revelam symptomas: encolhidos, pelos arrepiados, andar em circulo paralysia ou simples paresia posterior, perturbações do equilibrio, cabeça inclinada, apoiada ao chão. Passagens de todos esses quatro animaes foram bem succedidas.

Pombos — São incompletos os resultados obtidos. Limitamonos a assignalar que, ao contrario do que verificam REMLINGER e BAILLY (25) que encontram no pombo um animal muito sensivel, capaz de servir ao diagnostico a ao estudo do virus argentino, que elles estudaram longamente em uma memoria, o virus que isolamos parece encontrar no pombo, pelo menos quando isolado, um animal mais resistente. Alguns animaes dão uma doença benigna, seguida de restabelecimento. As ultimas inoculações forneceram resultado positivo em dois pombos, de tres inoculados, por via subdural, á dose de 0.1 cc. de uma emulsão espessa de substancia nervosa. O terceiro apresentou ligeiros disturbios de equilibrio, com posição anormal do pescoço, tendo-se restabelecido. Novas experiencias estão em curso.

O coelho tem-nos fornecido resultados inconstantes, que reclamam novos ensaios. Em alguns casos, dentro do periodo de incubação identico ao verificado na cobaya, o coelho revela symptomas typicos de encephalite; as passagens de controle nada revelaram no entanto. Nossos ensaios permittem apenas concluir que o coelho não é um animal de eleição para isolamento ou estudo do virus.

Infecção experimental do cavallo — As primeiras tentativas de reproducção da doença no cavallo, falharam. Foram feitas com material de passagem em serie na cobaya, por inoculação de dois animaes, na dose de 1 cc. por via subdural e 20 cc. por via venosa, de uma emulsão a 10 p. 100. Essas tentativas foram repetidas em outros animaes, utilisando a via subdural e a via nasal, nas doses de 5 cc. e de 40 cc. respectivamente, com emulsão de substancia nervosa a 10 p. 100, passada em gase. Os resultados foram então satisfactorios.

1.º caso — Potranca de anno e meio, nacional, recebe por via subdural, 5 c.c. de uma emulsão de cerebro de cobayas a 10 p. 100.

A inoculação é realisada em bôas condições, sem accidente, em 5-7-37. A temperatura normal, que oscilla entre 37°8 e 38°6, sendo realisadas duas tomadas diarias, parece soffrer uma primeira ascensão ligeira no dia 6-7-37 á tarde, com 39°3. No dia 7-7-37 á tarde, 48 horas depois da inoculação, a temperatura é de 39°7. Pela manhã do dia 8, quando os primeiros symptomas são constatados, registramos 39°5; á tarde do mesmo dia, alcança o maximo a curva thermica, com 40°8, para cahir duas horas depois a 39°7.

Os primeiros symptomas são vistos pela manhã do dia 8, cerca de 2 dias e meio depois da inoculação: somnolencia, immobilidade, indifferença ás excitações, mucosa da conjunctiva congestionada, cabeça ligeiramente pendida. A' tarde do mesmo dia verifica-se:

Temp. 40.8, pulso 44, respiração 40 p. m.. Mesmo dentro da baia é facil ver que o animal está visivelmente doente: somnolencia, palpebras semi-cerradas, immobilidade, cabeça pendida. O andar é penoso e forçado. Ha ligeiro lacrimejamento e a conjunctiva é injectada de coloração roseo-intenso, avermelhado. As perturbações do equilibrio são evidentes, sendo os membros dianteiros mantidos muito abertos, como se vê em uma das photagraphias. Fraqueza generalisada, indefinivel, tropeços frequentes, levando mais tarde á quéda com facilidade. O pescoço é já mantido ligeiramente desviado para a direita, a cabeça inclinada e torcida, com tendencia a procurar apoio. O animal anda como tonto, sem direcção, cambaleando, com manifesta tendencia a caminhar para a direita, ou mesmo a andar em circulo. Visão diminuida, da vista direita. Qualquer esforço para se deslocar, quando forçado a fazel-o, traz cansaço extremo, quéda frequente, respiração accelerada e dispnéa. Deixado á vontade, caminha sem direcção e encosta-se ao primeiro obstaculo que encontra, assim permanecendo immovel, os membros abertos, assegurando o equilibrio do corpo, já difficil. Mais tarde o andar vae-se tornando quasi impossivel e para conseguir alguns passos mais frequentes do animal é necessario auxiliar-lhe o equilibrio, sem o que a quéda é fatal.

No dia 9, pela manhã, os symptomas se aggravaram. Depois de ter andado ás tontas pelo pateo, é encontrado com o corpo e a cabeça fortemente apoiados á parede, os membros anteriores excessivamente abertos, os posteriores em posição anormal, numa attitude de equilibrio profundamente compromettido. Os passos são logo seguidos de quéda, se o apoio lateral falta. Uma das photographias, tomada no segundo dia de doença, mostra o estado do animal. A quéda é seguida de cansaço extremo e acceleração respiratoria, mantendo-se torcido o pescoço e a cabeça apoiada ao chão, em posição anormal. A morte se dá á 1 hora da madrugada do dia 10-7-37. Evolução em 40 horas, approximadamente. A autopsia é realisada 7 horas depois da morte, pela manhã.

Passagens de material nervoso de cerebro desse animal a cobayas são positivas, com symptomas typicos, ao cabo de 5 dias e meio da incubação. O exame histologico revelou lesões caracteristicas como veremos mais longe.

2.° *caso* — O segundo caso de reproducção experimental da doença no cavallo, completa os resultados do primeiro, sendo utilisada aqui a

via nasal, que tem sido utilisada como meio de infecção nas encephalites estudadas nos Estados Unidos não só na cobaya como no cavallo.

Uma egua, n.º 57, recebe por instillação nasal 40 c. c. de uma emulsão a 10 % de cerebro de cobayas, ás 16 horas do dia 5-7-37. No dia 7 de Julho pela manhã a temperatura soffre uma ascensão, alcançando 40,1, cerca de 40 horas depois da infecção. A' tarde do mesmo dia o thermometro marca 40,5 (ás 14 hrs.) 40,2 (ás 16 hrs.) e 39,8 (ás 17 horas), para cahir a 37,5 no dia seguinte, permanecendo normal nos limites de 38,5, em seguida. No dia 10 nova ascensão thermica se verifica: 40º6 pela manhã e á tarde, quando os primeiros symptomas se manifestam.

A' tarde do dia 10, em seguida á segunda elevação thermica, são vistos os primeiros signaes: somnolencia, immobilidade, indifferença aos ruidos. Dia 11 pela manhã o animal é já encontrado cahido. O estado geral aggrava-se de modo rapido, com rigidez do pescoço, torcido para direita, acceleração respiratoria, dyspnéa, rigidez muscular e movimentos de pedalagem dos membros anteriores. Ao nivel da arcada orbitaria direita ha uma escoriação produzida pelo attricto da cabeça contra o chão. O animal permanece em decubito lateral, o pescoço inclinado para traz, até o dia seguinte pela manhã, quando é sacrificado, nos ultimos estados. Periodo de incubação de 5 dias. Duração de 2 dias. As passagens em cobaya forneceram-nos resultados irregulares, não sendo possivel affirmar a presença de virus no material inoculado. As lesões histologicas não deixam duvida, no entanto, como veremos adeante. A autopsia nada revela ao exame macroscopico, senão os ganglios ligeiramente hypertrophiados, edemaciados. A bexiga é enormemente distendida e a urina contem apreciavel quantidade de glycose.

Exame histologico — O material histologico foi examinado a pedido nosso, pela Secção de Anatomia Pathologica do Instituto. Deixamos aqui registrados os nossos agradecimentos ao dr. J. R. Meyer e ao dr. P. Bueno, que examinaram o referido material com o maior interesse.

Era do nosso objectivo controlar a presença de lesões classicas das encephalites infecciosas estudadas em pathologia animal desde o trabalho fundamental de Joest e Degen, que se occuparam da doença de Borna. O estudo histologico do virus francez foi objecto de trabalhos de Marchand e Moussu e os virus americanos têm sido longamente estudados por varios autores, entre os quaes Meyer, Haring e Howit (12), Larsell, Haring e Meyer (11) e principalmente por Hurst (9-8).

Os casos de infecção natural estudados são em numero de 3, de material colhido no fóco de Tatuhy.

Caso n.º 2 — E' justamente o caso que nos forneceu a primeira observação clinica relatada em paginas anteriores. O exame histologico revelou em torno dos vasos de substancia central, proliferação de elementos redondos e pequenos, de caracter lymphocitario, havendo igualmente fócos de proliferação cellular independentes dos vasos san-

guineos. As cellulas nervosas não apresentavam alteração digna de registro.

N.º 3 — Material do potro que forneceu resultado positivo nas inoculações realisadas. Foi verificada apenas discreta infiltração de cellulas redondas, principalmente ao nivel dos capilares sanguineos.

N.º 4 — Trata-se de um caso em que parece ter havido uma forma sub-aguda. O exame histologico assignala nas visinhanças do corno de Ammon diversos vasos cercados por um manguito de elementos inflammatorios. Em plena substancia nervosa ha tambem fócos inflammatorios contendo cellulas redondas pequenas e polymorphonucleares. Ao nivel do cerebello, miningeas congestas e substancias nervosa sem alterações apreciaveis. Nos córtes corados pelo Mann vêem-se pequenas granulações acidophilas coradas mais intensamente e menores que os hemacias, de aspecto homogeneo e localisadas, na maioria das vezes, sobre as cellulas andotheliaes dos capilares. Granulações identicas se encontram occasionalmente, espalhadas pela substancia nervosa.

Histologia da doença experimental — Os exames foram feitos em material proveniente dos dois casos de infecção experimental do cavallo e em cobayas inoculadas por via subdural.

Potranca n.º 77 — Inoculada por via subdural conforme dados já expostos. Autopsia realisada 7 horas depois da morte occorrida durante a noite. O exame do cadaver não revela nenhuma alteração macroscopica digna de registro especial. O exame histologico mostra em toda extensão do cerebro um processo inflammatorio bem diffuso, caracteristico pela proliferação de cellulas da microglia. Em alguns fócos o processo é acompanhado do apparecimento de numerosas cellulas em necrobiose. Em torno dos vasos ha edema e accumulos de cellulas lymphocitarias e cellulas locaes proliferadas. No cerebello foram vistos discretos fócos inflammatorios, principalmente na substancia branca e em torno dos capilares. Na medulla ha alterações identicas ás do cerebro. Os outros orgãos examinados, hypophyse, pulmão, figado, baço, rim, ganglios lymphaticos, nada apresentaram digno de um registro especial.

Egua n.º 57 — Inoculada por instillação nasal. Sacrificada em estado extremo, por inoculação de ar na veia.

No cerebro, em todas as regiões examinadas, ha lesões muito nitidas de forte infiltração de cellulas redondas e proliferação gliosa em torno dos vasos e em diversos outros pontos da substancia nervosa. Ha, além disso, edema bastante accentuado das porções perivasculares. No bulbo, além das mesmas lesões do cerebro, ha em determinado ponto da parte central, forte edema com dissociação das fibrilas ner-

vosas e grande quantidade de hemosiderophagos. No cerebello as lesões são identicas ás do cerebro, porém menos intensas. Não foram encontradas inclusões intranucleares ou protoplasmaticas nos córtes corados pelo methodo de Mann.

Material de cobayas — Foram numerosos os exames histologicos de cobayas. Vamos apenas referir alguns.

Cobaya 166 — Na visinhança da superficie do cerebro ha discreta proliferação de elementos do typo glioso em redor de alguns capillares sanguineos. Os córtes corados pelo methodo de Mann apresentam granulações acidophilas no interior dos nucleos, bastante numerosas, tendo a mesma disposição que as condensações normaes de chromatina. Não foi possivel realisar passagem com esse material.

Cobaya 673 — Em toda extensão dos córtes abrangendo grande parte do cerebro, ha forte proliferação das cellulas da microglia e infiltração de leucocytos polymorphonucleares. Nitida infiltração de cellulas mononucleares e leucocytarias, degeneração hyalina da parede dos capillares. No cerebello ha infiltração de numerosos leucocytos e proliferação das cellulas da microglia. Fórtes accumulos de cellulas mononucleares e leucocytarias em torno dos vasos.

Cobaya 822 — Inoculada com material nervoso proveniente do caso de infecção experimental realisada na egua 77.

Em toda extensão dos córtes ha forte proliferação dos elementos da glìa, com formação de numerosos fócos inflammatorios e em torno de alguns capillares, accumulos de cellulas lymphocitarias e cellulas locaes proliferadas. Na pia mater ha proliferação das cellulas da microglia. Inclusões cellulares não foram encontradas, nem nucleares.

Em outras cobayas as lesões são menos accentuadas.

O estudo do material histologico continúa a realisar-se; os resultados aqui registrados são os dos primeiros exames.

Esse estudo, como é facil imaginar, requer exames seriados, tendo sido descriptas na encephalomyelite americana não só inclusões nucleares que se assemelham ás inclusões classicas da doença de Borna, segundo Hurst (8), embóra esses resultados tenham soffrido critica (9), como igualmente inclusões localizadas no protoplasma das cellulas nervosas, descriptas por Larsell, Haring e Meyer (11).

CONCLUSÕES

Em Março do corrente anno foi verificada no municipio de Tatuhy, no Estado de S. Paulo, a occurrencia de uma doença de symptomatologia nervosa attingindo o cavallo, com disturbios locomotores e

do equilibrio e symptomas propriamente encephalicos: somnolencia, immobilidade, posição anormal da cabeça, etc.. Cerca de 60 animaes foram dizimados. O apparecimento do fóco epizootico coincidiu com um periodo de calor intenso, excepcional.

Do cerebro de um dos cavallos foi isolado um agente infeccioso, um virus filtravel em Berkefeld N e W, pathogenico para cobaya por inoculação subdural, transmissivel em serie, resistente á glycerina, a $+4^o$ pelo espaço de um mez pelo menos.

Foi realisada infecção do cavallo em condições experimentaes, por via subdural e por instillação nasal com material proveniente do cerebro de cobayas e reproduzida de novo a doença, na cobaya, com material nervoso proveniente do cavallo.

A symptomatologia da infecção experimental no cavallo e na cobaya reproduz o quadro clinico da doença natural, com um periodo de incubação de $2^1/_2$ — 5 dias no primeiro e 3-4-6 dias em média, no segundo. A duração dos casos de doença experimental foi de 40 horas e 2 dias no cavallo e de 1-2-3 dias em media, na cobaya.

A evolução do quadro clinico é precedida de uma elevação thermica de 0.5 a $1^o.5$ no cavallo e na cobaya.

A cobaya é o animal de eleição para isolamento, conservação e estudo do virus.

O camondongo é igualmente sensivel, com symptomas semelhantes, periodo de incubação identico e duração aproximadamente a mesma. O pombo e o coelho mostram-se mais resistentes, mesmo por via subdural.

O cerebro dos animaes que adoeceram espontaneamente, do mesmo modo que o dos animaes inoculados, cobayas e cavallos, apresenta lesões typicas de encephalite infecciosa, predominando a infiltração e o accumulo de cellulas lymphocytarias, sobretudo em torno dos capillares sanguineos, na camada cinzenta, na região do corno de Ammon, no bulbo, etc..

O virus da encephalomyelite infecciosa isolado em S. Paulo se afasta nitidamente do virus da doença de Borna e do virus estudado na França por Moussu e Marchand. Pelos seus caracteres de pathogenicidade, approxima-se, ao contrario, dos virus da encephalomyelite infecciosa estudados nos Estados Unidos.

Experiencias de immunidade cruzada mostrarão se ha ou não identidade de amostras em relação a um dos typos de virus americanos, sendo conhecido que o virus argentino é identico ao virus americano da California.

Novos estudos devem completar os dados aqui referidos.

ABSTRACT

During March last there appeared, in the municipality of Tatuhy, several dispersed cases of a disease with a nervous symptomatology and an epizootic nature, which attacked the horse. The outbreak occurred just during a period of excepcionally hot weather. About 60 animals were affected. As there are few horse breeders in this region, the losses were not very heavy. Some of the farms, at least, are near the Sorocaba River, and some of the pastures located along its course are on low and damp ground. The rate of infection was from 5 to 60 %, depending on the location of the farm. In some herds of 6 animals, 3-4 died. A certain number of animals recovered, showing, however, lasting effects such as perturbations, both visual and of equilibrium.

There seems to be no special relation between the age and the receptivity of the animals. Not one case was observed among the mules that existed in the region, although in smaller numbers. Only horses were attacked.

The clinical examination reveals very characteristic nervous disturbances: slight perturbations of equilibrium, locomotive troubles, ataxias, paralyses; besides these symptoms: somnolency, immobility, hanging head held against a support, indifference to excitements. The evolution takes place, on an average, in from 2 to 6 days.

It was possible to isolate from the brain of one of the animals an infectious agent, resistant in phosphated glycerine at low temperatures, that may be transmitted in series by intracerebral inoculation of guinea-pigs, and that passes through a Berkefeld filter N and W. The incubation period in guinea-pigs is from 4 to 6 days; lasting from 1 to 3 days in young guinea-pigs weighing 250 grms. The clinical feature in guinea-pigs is that of a typical encephalomyelitis with periods of excitement and quietness or with a paralytic form. Numerous passages were made.

The infection was reproduced in horses through intracerebral route and intranasal instillation with an incubation period of 2 1/2 to 5 days, that lasted from 40 hours to 2 days, the clinical feature being similar to that of the natural disease. A rise of temperature is observed before the manifestation of the symptoms of the infection in the horse and the guinea-pig. Mice are also susceptible. The pigeon is infectable although more resistant, and the same can be said with reference to the rabbit. The guinea-pig is the best animal for the isolation, conservation and study of the virus.

The histological picture shows, in the cases of spontaneous as well as in experimental infection, typical lesions of an infectious

encephalomyelitis with predominant infiltration of lymphocitic cells in different parts of the encephalum and accumulation around the blood capillaries.

The virus of the infectious encephalomyelitis of the horse, isolated for the first time in Brazil, differs clearly from that studied in France, and from the virus of the Borna disease studied in Germany. On the otherhand, in its pathogenicity both clinical and experimental, it is very similar to the virus of the infectious encephalomyelitis studied in the United States.

Experiences of cross immunity will reveal if it be a different strain of virus; or if, on the contrary, the Brazilian virus is identical with one of the types of American viruses; which seems to be more probable. It is known that the Argentine strain is similar to the American virus of California.

Further studies will complete the first results here communicated.

BIBLIOGRAPHIA

1 — Doyle, L. — 1937 — Midwinter equine encephalo-myelitis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.,* **43**, 786.

2 — Dupont, O. — 1913 — Peste de cegar. *Rev. Zoot. Vet.,* **3**, 376-378.

3 — Dupont, O. — 1915 — Molestia de Borna? *Rev. Zoot. Vet.,* **5**, 198-201.

4 — Fröhner, E. y Zwick, G. — 1926 — Patologia y Terapeutica Veterinarias, **1**, 593-604.

5 — Giltner, L. and Sahan, M. — 1933 — Transmission of infectious equine encephalo-myelitis in mammals and birds. *Science,* **78**, 63.

6 — Giltner, L. and Sahan, M. — 1936 — The present status of infectious equine encephalo-myelitis in the United States. *J. Am. Vet. Med. Assoc.,* **41**, 363-377.

7 — Howitt, B. — 1934 — Certain properties of the v. of equine encephalomyelitis. *J. Infectious Diseases,* **55**, 138-149.

8 — Hurst, W. — 1934 — The histology of equine encephalomyelitis. *J. Exp. Med.,* **59**, 259-542.

9 — Hurst, W. — 1936 — Infection of the Rhesus Monkey (Macaca mulata) and the guinea pigs with the v. of equine encephalo-myelitis. *J. Path. Bact.,* **42**, 271-302.

10 — Kelser, R. — 1934 — Mosquitoes as vectors of the virus of equine encephalomyelitis. *12-th. Int. Vet. Congres.,* **2**, 336-347.

11 — Larsell, O., Haring, C., and Meyer, K. — 1934 — Histological changes in the central nervous system following equine encephalo-myelitis. *The Am. J. Path.,* **10**, 361-374.

12 — Meyer, K., Haring, C. and Hovitt, B. — 1931 — The etiology of epizootic encephalo-myelitis of horses in San Joaquim Valley, 1930. *Science,* **74**. 227.

13 — Meyer, K., Harring, C., and Howitt, B. — 1931 — New Knowledge of the neurotropic v. infections of the horse. *J. Am. Vet. Med. Assoc.,* **32**, 376-389.

14 — Moussu, R. — 1926 — Recherches sur certaines affections du syst. nerveux central des animaux domestiques. Thèse, Vigot Frères. Paris.

15 — Moussu, R. et Marchand, L. — 1924 — L'encephalite enzootique du cheval. *Rec. Med. Vet.,* **100**, 5-44.

16 — Moussu, R. et Marchand, L. — 1924 — *Idem, idem,* **100**, 65-90.

17 — Nicolau, S. and Galloway, I. — 1928 — Borna Disease and Enzootic Encephalo-Myelitis of Sheep and Cattle. Special Report Series, n.º 121 — His Magesty's Stationery Office, London.

18 — NICOLAU, S., NICOLAU, O. et GALLOWAY, I. — 1929 — Etude sur les septinévrites à ultravirus neurotropes. *Annales Inst. Pasteur,* 43, 1-88.

19 — NICOLAU, S. et GALLOWAY, I. — 1930 — L'encephalo-myélite enzootique expérimentale (maladie de Borna). *Annales Inst. Pasteur,* 44, 673-696.

20 — NICOLAU, S. et GALLOWAY, I. — 1930 — L'encephalo-myelite-enzootique expérimentale. *Ann. Inst. Pasteur* 45, 457-523.

21 — PANISSET, L. — 1936 — Méningo encephalo-myelite du cheval. *Rev. Gen. Med. Vet.,* 45, 193-207.

22 — PANISSET, L. — 1936 — Idem, idem, 45, 257-277.

23 — RECORDS, E. and VAWTER, L. — 1934 — Equine encephalomyelitis immunisation. *J. Am. Vet. Med. Assoc.,* 37, 784-798.

24 — REMLINGER, P. et BAILLY, J. — 1935 — Quelques symptômes de l'encephalomyelite experimentale des équidés (virus argentin). *Bull. Ac. Vet. France,* 8, 420-428.

25 — REMLINGER, P. et BAILLY, J. — 1936 — Contribution a l'étude du virus de l'encephalomyelite des equidés. *Biologie Médicale,* 26, 489-536.

26 — ROSENBUSCH, F. — 1934 — La encefalomielitis de los yeguarizos en la Argentina es una enfermedad infecciosa. *Anales de la Soc. Rural Argentina,* 67, 19-22.

26a— ROSENBUSCH, F. — 1934 — Ueber die epizootische Enzephalomyelitis der Pferde in Argentinien. *Zeitschrift f. Infektionskrankheiten,* 47, 48-59.

27 — SYLVERTON, J., COX, H. and OLITSKY — 1933 — Relationship of the viruses of vesicular stomatitis and of equine encephalomyelitis. *Science,* 78, 216.

28 — URBAIN, G. — 1915 — Peste de cegar. Encephalomyelite epizootica do cavallo. *Rev. Zoot. Vet.* 5, 238-241.

29 — ZWICK, W., SEIFRIED, O. und WITTE, J. — 1926 — Experimentelle Untersuchungen über die seuchenhafte Gehirn- und Rückenmarksentzündung der Pferde (Borna-Krankheit). *Ztschr. f. Infektions-Kr. d. Haustiere,* 30, 42-136.

30 — Anonymo — 1934 — Equine Encephalomyelitis. A resume of the Literature. The Cutter Laboratory. Berkeley. California. U. S. A.

EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

Estampa 19

Fig. A — Um caso de doença expontanea. Perturbações iniciaes do equilibrio, os membros excessivamente afastados. Cabeça inclinada, somnolencia.
Fig. B — Um segundo caso da doença natural. Perturbações do equilibrio, apoio ao tronco, immobilidade.

Estampa 20

Fig. C — Animaes restabelecidos.
Fig. D — Animal restabelecido mas apresentando sequelas perduraveis, perturbações locomotoras e do equilibrio. Visão compromettida.

Estampa 21

Figs. E e F — Reproducção da infecção na cobaya. Symptomas de encephalite: cabeça desviada da linha do corpo e apoiada ao chão.

Estampa 22

Infecção experimental do pombo. Photographia tomada no 7.º dia da doença. Morte occorrida na noite seguinte.

Estampa 23

Figs. G e H — Doença experimental no cavallo. Photographias tomadas no primeiro dia da doença. Inoculação sub-dural. Posição anormal dos membros, somnolencia.

Estampa 24

O mesmo caso da photographia anterior no segundo dia da doença: cabeça e corpo apoiados á parede; perturbações graves do equilibrio, atitudes anormaes.

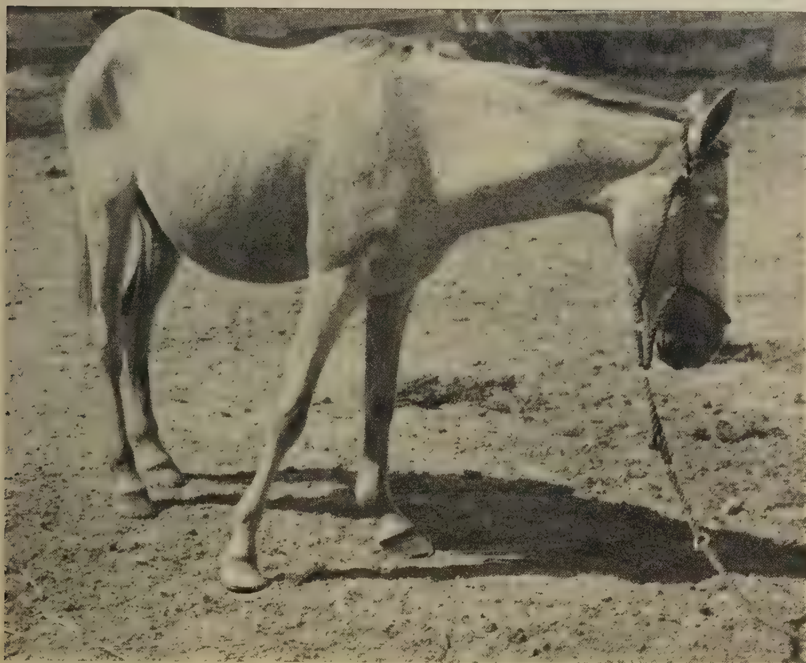
Estampa 25

Figs. I e J — O mesmo caso das estampas 23 e 24, já em estado mais avançado. Cabeça fortemente apoiada ao chão na figura I. Cabeça torcida sobre o corpo, atitudes anormaes na figura J.

Estampa 26

Fig. K — Lesões histologicas verificadas no cerebro da potranca das photographias anteriores. Corte atingindo a região do bulbo: infiltração de cellulas lymphocytarias.
Fig L — Fócos de infiltração de cellulas lymphocytarias formando accumulos ao nivel dos capillares sanguineos na região do corno de Ammon.

———o———



A



B



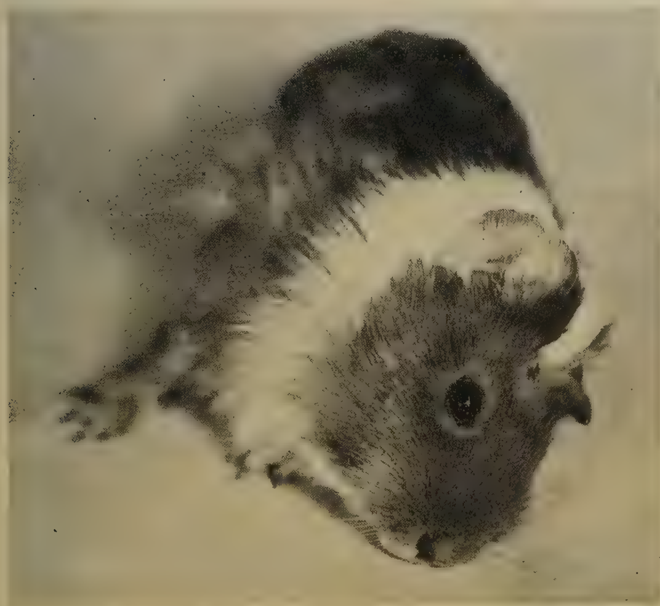
C



D



E



F





G



H



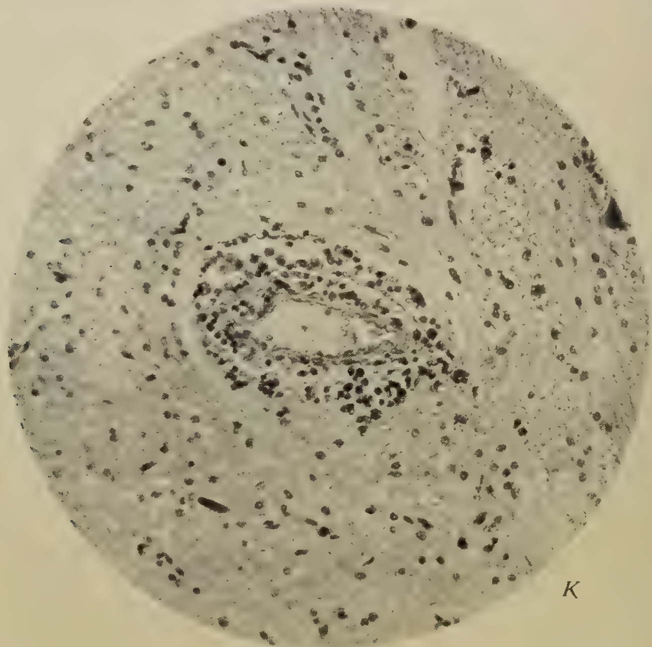


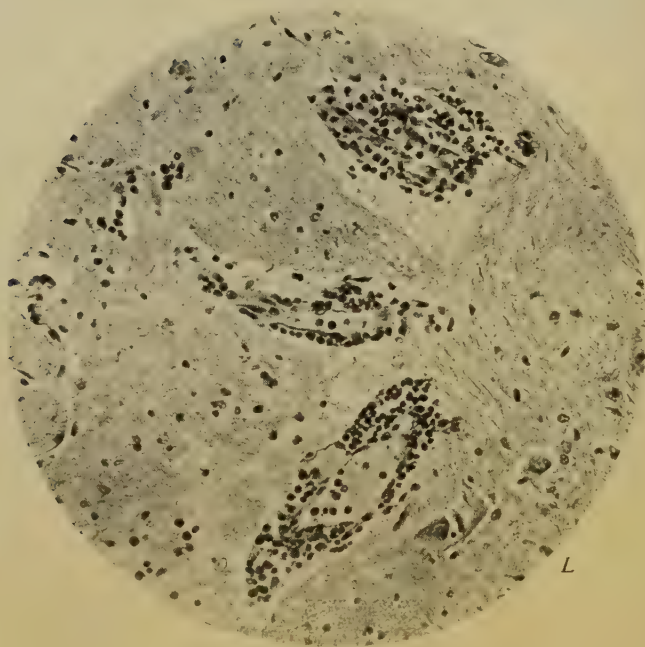
I



J

Estampa 26





Vol. 8 — Art. 7 Dezembro de 1937

DADOS ECOLOGICOS SOBRE OVOS E NYMPHAS HEXAPODAS DE "BOOPHILUS MICROPLUS" (CANESTRINI, 1888)

POR

C. Pereira

Trabalho do Instituto Biologico de S. Paulo

As experiencias que motivaram este artigo foram suggeridas pelo seguinte facto: desejando verificar se as nymphas hexapodas de *Boophilus microplus* (CANESTRINI, 1888), o carrapato commum do boi na America do Sul, offereciam qualquer differença de comportamento em relação á côr do supporte, quando expostas á luz solar, tomamos um tubo de vidro incolor de 1,20 m. de comprimento e 2,5 cm. de diametro; no interior delle collocamos uma fita de papel da largura do seu diametro, percorrendo-o em toda sua extensão, e constituida de segmentos brancos e pretos, regularmente alternados, medindo cada um cerca de 20 cm. de comprimento. Collocando cerca de 200 nymphas hexapodas do carrapato do boi no interior do tubo, na tarde de 30-3-936 e fechando suas extremidades cuidadosamente, deixamos em repouso durante a noite, e no dia seguinte de manhã expuzemos á luz directa do sol, deixando o tubo permanecer no mesmo lugar sem ser tocado, por seis dias, exposto ao aquecimento diurno e resfriamento nocturno.

A partir do quarto dia começaram a apparecer exemplares mortos e no fim de 6 dias não havia mais nenhum vivo. Essa mortalidade rapida estava em completo desaccordo com os dados acceitos acerca da longevidade, em jejum, desse carrapato que, acreditava-se, pode resistir vivo, em laboratorio, pelo espaço de varios mezes. Não conseguimos observar comportamento algum especial dos carrapatos em relação ás côres preta e branca da fita interna de papel, mas chamou-nos a attenção a desigualdade de distribuição da humidade do ar no interior do tubo.

Quando o tubo estava á sombra, sua tensão de vapor d'agua era tal que não permittia sua condensação em parte alguma; entretanto, exposto ao sol, notava-se que a parede de vidro em relação com o segmento de papel branco se tornava finamente orvalhada, ao passo que a zona de vidro em correspondencia com o papel preto se achava visivelmente secca; collocado um thermometro no interior do tubo, accusou 34° nas zonas de papel branco e 40,5° nas zonas com papel preto, donde uma differença de temperatura de cerca de 6,5° entre as

faixas alternadas, sufficiente para provocar tal subida na tensão do vapor em relação com as faixas brancas e assim explicar a deposição de agua sobre as zonas de vidro correspondentes.

Por outro lado, verificava-se a morte dos carrapatos inicialmente nas zonas de fita de papel preto e só posteriormente nas faixas correspondentes ao papel branco. A' noite igualava-se a tensão de vapor em todo tubo, em nivel que não permittia a deposição de agua em parte alguma de sua parede.

Portanto, a mortalidade dos carrapatos podia estar em funcção já das differenças de temperatura em si, já das consequentes variações de tensão do vapor d'agua, ou ainda de ambas as variaveis.

Fomos levados a pesquisar o comportamento desses acareanos em relação com a tensão de vapor pelas indicações fornecidas por outra observação: tentando criar *Amblyoma maculatum* Koch, 1844, usando a technica de manter o animal hospedeiro em gaiola sobre uma bandeja com agua, verificamos que as nymphas hexapodas cahidas do animal para a agua, depois de lavadas, enxutas em papel de filtro e recollocadas em pequenos tubos fechados com algodão, como é de praxe, morriam todas entre 4 e 6 dias, tal como as nymphas hexapodas de *Boophilus microplus* da primeira experiencia, ao passo que o material que não tivesse estado em contacto com agua apresentava, mantido em jejum, uma sobrevida superior a seis mezes, como é habitual.

Podia-se portanto ter a impressão de que o facto de as nymphas hexapodas se molharem, já por immersão em agua, já por ficarem expostas a uma condensação de vapor d'agua, era de molde a communicar-lhes uma como que fragilidade que as levasse a perecer em tempo extremamente curto em relação ao periodo normal de sobrevida, que é sempre de varios mezes.

Começamos tentando verificar qual o comportamento dos ovos e nymphas hexapodas de *B. microplus* em relação á agua.

O material empregado consistiu em desovas de fêmeas maduras, obtidas no laboratorio, bem como de nymphas hexapodas provenientes das criações mantidas em condições já conhecidas de ambiente, á temperatura media de 22°C.

COMPORTAMENTO DOS OVOS EM RELAÇÃO Á AGUA

a) Capacidade de sobrenadar — Tomando ovos isolados de *B. microplus* e depondo-os cuidadosamente á superficie da agua, verifica-se que elles fluctúam facilmente; entretanto, recalcando-os com um instrumento qualquer, de modo a mergulhal-os na agua, nota-se que afundam, permanecendo indefinidamente no fundo do recipiente.

Se usarmos agglomerações de ovos verificaremos que quanto maior fôr o numero delles, tanto maior será a difficuldade de submergil-os permanentemente, isso devido a certa quantidade de ar que fica nos intersticios existentes entre os ovos. Consegue-se entretanto submergir desovas inteiras desse carrapato desde que se agite violentamente o vidro com agua, de modo a expulsar as bolhas de ar e substituil-as por agua; desse modo as desovas mergulham, permanecendo tambem no fundo dos vidros. Entretanto, se as trouxermos á tona novamente, tornam a fluctuar, para submergirem de novo quando se agita o liquido.

b) Ecclosão dos ovos fluctuantes — Pondo a fluctuar em recipiente de vidro uma desova recente de *B. microplus*, observou-se sua ecclosão ao fim do mesmo tempo (41 dias) que outra desova da mesma época, collocada nas condições habituaes de laboratorio. Portanto, o facto dos ovos fluctuarem não interfere de modo algum no tempo necessario á sua ecclosão. Facto interessante a assignalar é que todas as nymphas hexapodas obtidas nessas condições submergiram espontaneamente, indo todas agglomerar-se no fundo do tubo, ao passo que as cascas vasias dos ovos continuaram a fluctuar, adherindo pouco a pouco ás paredes do tubo de vidro.

c) Ecclosão dos ovos submersos — Submergindo uma desova em outro tubo, na mesma época em que se fez a experiencia anterior, verificou-se que os ovos ficavam debaixo d'agua sem apresentar modificações dignas de nota; no tempo normal de ecclosão para as nossas condições de trabalho (41 dias) surgiram apenas algumas nymphas hexapodas, que continuaram submersas, sendo o numero de ecclosões augmentado gradativamente até o 55.º dia, quando se attingiu uma proporção de cerca de 20 a 25 % de ecclosões no material submerso.

E' interessante a possibilidade que tem essa apreciavel porcentagem de ovos de conseguir passar seu periodo de incubação e dar productos viaveis mesmo inteiramente submersos.

d) Dessecamento de ovos previamente submersos — Dos ovos submersos da experiencia anterior, foi retirado a 13-V-36 um pequeno lote, que foi posto a secco em tubo, como é de habito; estes ovos foram murchando e encarquilhando progressivamente, delles não tendo sahido nympha hexapoda alguma. Portanto, quando os ovos previamente molhados são postos em ambiente contendo apenas a humidade do ar sufficiente para as necessidades dos ovos normaes, elles se comportam como se se tivessem tornado mais permeaveis á agua, perdendo-a rapidamente e soffrendo um processo de dessecamento que os conduz á morte.

COMPORTAMENTO DOS OVOS EM RELAÇÃO AO SOTERRAMENTO

Continuando na mesma ordem de ideias, resolvemos verificar o comportamento dos ovos dos ixodideos em questão, quando recobertos por terra ou areia, usando desovas obtidas na mesma época que as precedentes, sendo as experiencias feitas nas mesmas condições de temperatura e contemporaneamente com as anteriores.

a) Soterramento com areia fina dessecada a quente — Não houve ecclosão dos ovos, tendo elles encarquilhado e tomado côr escura.

b) Soterramento com terra de jardim dessecada a quente — Resultado igual ao da experiencia anterior.

c) Soterramento com areia fina, apparentemente secca (não dessecada a quente) — Desovas collocadas em provetas do mesmo diametro e recobertas com camadas de areia fina conservada ha muito tempo no laboratorio, cujas alturas eram respectivamente de 1, 2, 5 e 10 cm., eclodiram no tempo normal (41 dias).

d) Soterramento com terra de jardim, apparentemente secca (não dessecada a quente) — Experiencia analoga á anterior, com resultados identicos.

e) Soterramento com areia fina saturada de humidade — Ovos recobertos com uma camada de areia humida de 2 cm. de altura eclodiram no tempo normal (41 dias).

f) Soterramento com terra de jardim saturada de humidade — Experiencia analoga á anterior e com resultados identicos.

COMPORTAMENTO DAS NYMPHAS HEXAPODAS EM RELAÇÃO Á AGUA

a) Capacidade de sobrenadar — Tomando nymphas hexapodas de *B. microplus* e depondo-as cuidadosamente á superficie da agua, verifica-se que podem fluctuar apparentemente tão bem como haviamos constatado em relação aos ovos; recalcadas para debaixo d'agua afundam tão bem quanto os ovos, podendo ainda voltar a sobrenadar quando as forçamos a attingir a superficie livre do liquido.

Facto interessante foi fornecido pelos ovos empregados na experiencia de «eclosão dos ovos fluctuantes», cujas nymphas hexapodas, á medida que nasciam, iam submergindo, achando-se finalmente reunidas no fundo do recipiente; parece que a tendencia a fluctuar só se manifesta depois de certo tempo de permanencia ao ar livre, provavelmente devido a modificações do exoesqueleto em contacto com o oxygenio do ar.

b) Sobrevida em submersão — Tanto as nymphas hexapodas que nascem submersas, como as que são submergidas em tempos variaveis após a eclosão, revelaram-se surprehendentemente capazes de

longa sobrevida quando mantidas rigorosamente dentro d'agua, no fundo de uma proveta.

Empregamos nesta experiencia agua de torneira, com a qual enchiamos as provetas até a metade, renovando a agua uma vez por semana afim de evitar a putrefacção dos materiaes excretados pelas nymphas. Desse modo, conseguimos a sobrevida das nymphas hexapodas pelo apreciavel praso de 2 mezes e meio (73 dias); temos a impressão de que se a agua fosse renovada com menor intervallo e não houvesse no fim da experiencia uma demora de 18 dias na substituição da agua, o tempo de sobrevida ainda seria maior.

Deixando de lado a questão puramente academica de conhecer-se a sobrevida maxima em condições de submersão, fica-nos o facto de as nymphas hexapodas serem capazes de levar uma vida verdadeiramente aquatica por espaço de alguns mezes, o que demonstra a inocuidade da agua em relação á sua vitalidade.

Julgamos que esse phenomeno encontra sua explicação no facto das nymphas hexapodas serem desprovidas de systema tracheal, possuindo apenas respiração cutanea, o que lhes permitte o approveitamento do oxygenio em dissolução na agua.

c) Resistencia ao dessecamento — As experiencias relativas á resistencia ao dessecamento das nymphas hexapodas foram as que forneceram os resultados mais interessantes.

E' conhecida a necessidade que têm os carrapatos, de um certo grao de humidade para poderem effectuar seu cyclo evolutivo, questão que foi muito bem estudada por Mac Leod para o *Ixodes ricinus.* Não ha medidas precisas a esse respeito em relação ao *Boophilus microplus,* nem tivemos opportunidade de as realizar. O que se verifica, é que o minimo de humidade do ar necessario para a longa sobrevida das nymphas hexapodas, em condições de laboratorio, está francamente abaixo do ponto critico de tensão do respectivo vapor. A manutensão do material pode processar-se desde uma athmosphera saturada de vapor d'agua até um ambiente apparentemente pobre em humidade. Mantidas condições constantes de humidade, a sobrevida das nymphas hexapodas em captiveiro é de varios mezes, tendo Lahille observado um maximo de 9 mezes.

1.ª experiencia — Um lote de 50 nymphas hexapodas é deixado por espaço de cerca de 5 minutos em contacto com agua (12-V-936) depois enxuto em papel de filtro e recollocado em tubo contendo papel de filtro e fechado por um tampão de algodão (condições habituaes de criação). Ao fim do quarto dia de observação (16-V) só restavam 2 vivas; no sexto dia (18-V) só havia 1 ainda viva, mo-

vendo-se muito pouco; no dia seguinte (19-V) estavam todas mortas e encarquilhadas.

2.ª experiencia — Um lote de 50 nymphas hexapodas é deixado por espaço de 24 horas dentro d'agua (de 12 a 13 - V - 936), depois enxuto e recollocado em tubo como na 1.ª experiencia. No quinto dia (18-V) havia varias mortas; no sexto dia (19-V) a maior parte já morrera; no setimo dia (20-V) só restavam 4 vivas, movendo-se muito lentamente; no oitavo dia (21-V) estavam todas mortas.

3.ª experiencia — Um lote de 50 nymphas hexapodas é deixado durante uma semana (de 11-V-a 18-V) em baixo d'agua, depois enxuto e recollocado em tubo como na 1.ª experiencia. No quarto dia (22-V) só restavam 5 vivas; no sexto dia (23-V) havia 4 vivas; no setimo dia (24-V) ainda existia 1 viva, movendo-se lentamente; no oitavo dia (25-V) estavam todas mortas.

4.ª experiencia — Em um tubo de vidro, medindo 12,5 cm. de comprimento e 12 mm. de diametro, atravessado em todo o comprimento por uma fita de papel de filtro de 10 mm. de largura e fechado em suas extremidades por tela metallica sufficientemente fina para reter os animaes em observação, foram collocados cerca de 200 nymphas hexapodas, da mesma proveniencia que o material anterior. No dia 13-V o tubo foi encostado verticalmente sobre algodão hydrophilo humido, por cerca de meia hora, até ficar com o papel de filtro humidecido e a face interior da parede de vidro finamente orvalhada; em seguida foi submettido a uma corrente de ar á temperatura ambiente, fornecida por seccador electrico desses usados para enxugar cabello, durante alguns minutos, o necessario para o tubo se tornar apparentemente enxuto, após o que foi o tubo guardado; essas manipulações foram repetidas diariamente, uma vez por dia. No quarto dia de experiencia (17-V) notou-se accentuada mortalidade; no sexto dia (19-V) não havia mais nenhum exemplar vivo.

Imaginando que o facto de provocar um dessecamento diario do material pudesse falsear os resultados da experiencia, tomamos dois tubos nas condições acima descriptas, collocando em ambos cerca de 500 nymphas hexapodas; um dos tubos foi submergido em agua por 24 horas, após o que, juntamente com o tubo testemunha, não submerso previamente, foi exposto a uma corrente de ar á temperatura ambiente, até ficar apparentemente secco. Em seguida foram ambos guardados juntos, no meio ambiente.

Ao passo que no tubo testemunha houve uma sobrevida de cerca de um mez (de 10-X a 12-XI-936), no tubo previamente humidecido a sobrevida do material foi apenas de uma semana (de 10-X a 18-X-936).

5.ª experiencia — Nesta experiencia procuramos verificar a influencia de temperatura relativamente elevada (38°C) sobre os resultados fornecidos pelas experiencias anteriores, feitas á temperatura media de 22°C.

No dia 19-V um tubo com alguns milhares de nymphas hexapodas foi fechado hermeticamente afim de evitar a evaporação, e levado á estufa a 38°C, onde permaneceu até o dia 26-V (7 dias), sem que acontecesse nada de especial.

Na mesma occasião, outro tubo igual, mas fechado apenas por tela metallica fina, foi posto nas mesmas condições. Ao fim de 48 horas todo o material estava morto.

Um terceiro tubo, tambem fechado com tela metallica fina, na mesma occasião, recebeu numerosas nymphas hexapodas que tinham permanecido por meia hora n'agua. Após 24 horas estavam todas mortas. Portanto, mesmo em condições severas de dessecamento, as nymphas hexapodas previamente molhadas resistiram apenas a metade do tempo que o material normal.

Esta serie de experiencias relativas á resistencia das nymphas hexapodas ao dessecamento trouxe uma contribuição interessantissima para o esclarecimento do tempo de sobrevida desses sêres na natureza, permittindo interpretar devidamente um conjuncto de factos relativos á ecologia e zoogeographia do *Boophilus microplus*, o que discutiremos opportunamente.

A ACÇÃO DA LUZ

Projectando um feixe luminoso, resfriado pela passagem atravez de um balão com agua, sobre uma agglomeração de nymphas hexapodas de *B. microplus*, não se nota reacção alguma dentro dos primeiros 5 minutos. Não prolongamos a experiencia por maior tempo.

ACÇÃO DO CALOR

Quando o material se acha quieto na parede de um tubo e este é agarrado pela mão durante alguns segundos, observa-se logo uma grande actividade das nymphas hexapodas, que se locomovem rapidamente em todos os sentidos, tendendo a irradiar.

Quando o material está quiescente a 22°C e é transportado cuidadosamente para a estufa a 38°C, nota-se phenomeno identico; entretanto, a permanencia na estufa durante certo tempo faz com que ellas voltem pouco a pouco á calma, acabando por não se locomoverem mais.

Temos a impressão de que para cada temperatura compativel com a vida das nymphas hexapodas póde haver um estado quiescente

que só é quebrado por mudança brusca de temperatura. Em seguida á agitação determinada pela mudança brusca de temperatura, tende a estabelecer-se nova quiescencia.

ATTITUDE NOS TUBOS DE CULTURA

Outro facto interessante parece-nos permittir a caracterização rapida das nymphas hexapodas dos dois generos provavelmente mais importantes de ixodideos que atacam os animaes domesticos e o homem no Brasil, *Boophilus* CURTICE, e *Amblyomma* KOCH.

Em laboratorio, nos tubos de cultura, as nymphas hexapodas de *B. microplus* permanecem adherentes ao vidro e quietas, collocando-se rigorosamente umas ao lado das outras, de modo a formar manchas regularmente arredondadas, de côr castanho-clara, sempre um pouco acima do fundo do recipiente, mas raramente além de 7 centimetros acima delle.

Embora collocadas em tubos de vidro de mais de um metro de comprimento, não mostram em absoluto tendencia a subir acima do limite assignalado, ficando geralmente bem baixo. Não temos ainda observações feitas no campo, mas, a julgar pelo comportamento constantemente observado no laboratorio, é de suppor que os «micuins» do carrapato commum do boi sejam encontrados de preferencia no capim mais rasteiro ou então apenas nas partes mais inferiores da vegetação mais alta.

Quanto ao *Amblyomma maculatum* KOCH, as observações feitas no laboratorio, nas mesmas condições em que foi estudado o *B. microplus,* revelaram uma tendencia differente, qual a de suas nymphas hexapodas subirem rapidamente pela parede dos tubos, indo formar agglomerações adensadas e escuras pela superposição de varios exemplares, nas porções altas do tubo, de preferencia assentadas no tampão de algodão e suas adjacencias. Nymphas hexapodas de *A. cajennense* (FABR., 1787) apanhadas em plantas num pasto, formavam agglomerações analogas, ás quaes o povo denomina «bolas» de «micuins» ou de «carrapato polvora». Taes «bolas» estavam localisadas já na pagina inferior de folhas de varios arbustos, de preferencia junto á margem, apresentando forma irregular, já constituindo um revestimento em torno de finos galhos seccos de plantas herbaceas de pouco crescimento.

Pudemos verificar que as referidas «bolas» se formavam em alturas variaveis, sendo mais frequentes ao nivel de meio metro de altura. Retiradas dos vegetaes as partes que continham «bolas» e sendo ellas collocadas em uma proveta, verificou-se em praso variavel, entre 5 e 10 minutos, que assumiam nos tubos a mesma attitude já

assignalada para as nymphas hexapodas de *A. maculatum.* Estamos empenhados em criar outras especies de *Amblyomma* para ver até que ponto esse caracter serve para as distinguir do genero *Boophilus.*

Não tivemos opportunidade de ver o que acontece, a esse respeito, com outros generos de carrapatos.

Em relação ao *Boophilus,* tivemos recentemente (Outubro, 936) opportunidade de estudar experimentalmente seu comportamento em relação ás gramineas. Plantando um pé de gramma em um vidro e collocando esse vidro dentro de uma cuba com agua, puzemos junto ao pé do vegetal centenas de nymphas hexapodas provenientes da desova de uma femea de *Boophilus* Durante cerca de 20 dias de observação pudemos verificar que as nymphas hexapodas, tanto de dia como durante a noite, ficam mettidas nas fendas deixadas pelas folhas envaginantes da gramminea, não sendo influenciadas pelo calor solar que provavelmente pouco as attingirá.

O processo mais seguro de pol-as em movimento consiste em assoprar sobre ellas, o que acarreta seu espalhamento pelas folhas; voltam entretanto pouco a pouco, ao repouso em seus abrigos, desde que sejam deixados em paz. Postas simplesmente sobre terra, procuram abrigar-se nas fendas que encontram, onde formam agglomerados do mesmo typo que os assignalados precedentemente.

AVIDEZ PELO HOMEM

Em opposição com a observação de ROHR, citada por C. PINTO, não conseguimos ser picados por nymphas hexapodas de *Boophilus.* Em uma das experiencias (Setembro de 1936) puzemos 2 exemplares sobre nosso antebraço, tendo esperado cerca de uma hora, inutilmente; os carrapatos firmavam bem as patas, assumiam attitude que parecia indicar proposito de sugar, desistindo porém ao fim de certo tempo.

Em outra experiencia, collocamos cerca de 30 nymphas hexapodas na perna direita, sendo ellas recobertas pela meia, o que, na pratica, permitte as mais severas aggressões pelo *Amblyomma cajenensse;* iniciada a experiencia ás 9 horas, ás 23 horas ainda não havia larva alguma fixada, o que foi confirmado pela observação do dia seguinte. Repetida a experiencia na perna esquerda, obtivemos resultados identicos.

Somos portanto obrigado a concluir que as nymphas hexapodas de *Boophilus* não picam o homem, o que confirma a observação de DE JESUS nas Philippinas (*).

(*) Já estava escripto o presente trabalho, quando, entre nós, BAUREPAIRE ARAGÃO teve a opportunidade de referir observações no mesmo sentido.

Logo que estivermos mais bem apparelhados continuaremos nossos estudos acerca da ecologia de *Boophilus microplus,* após o que daremos toda bibliographia consultada; este trabalho tem apenas o caracter de uma nota previa.

ABSTRACT

This preliminary paper deals with some observations on the behaviour of eggs and larvae of the South-American cattle-tick, Boophilus microplus (CANESTRINI, *1888) under several conditions of experience, such as: viability of the immersed eggs; returning to the air of eggs previously immersed; viability of eggs and larvae burried in earth and sand in different conditions of humidity.*

The most interesting results were obtained from the behaviour of the larvae in relation to the athmospheric humidity.

Unfortunately, it was not possible to determinate the saturation deficiencies of the air during the experiments, but these tests proved that the larvae that had been previously moistened in different ways showed a peculiar fragility to the habitual conditions, not exactly determined, but sufficient for the normal living of sister larvae, not previously wetted. It was observed that the most efficient exciting agent on the resting larvae is heat.

Boophilus larvae immediatly after hatching crawl into cracks in the earth, into the insertion of grass leaves, etc.; when disturbed, by animal breathing, they become active, dispersing in all directions, and gradually return to rest in protected parts of the plant, but do not form large clusters of seed-ticks under the leaves, as the representatives of the genus Amblyomma KOCH *do.*

The seed-ticks of the cattle-tick have refused, experimentally, to attack man, dog, rabbit and guinea-pig.

———o———

Vol. 8 — Art. 8 Dezembro de 1937

ESTUDOS SOBRE O CARBUNCULO
I - MECANISMO DA INFECÇÃO EXPERIMENTAL E DA IMMUNIDADE ANTICARBUNCULOSA

POR

O. Bier, N. Planet e V. Grieco

Trabalho do Instituto Biologico de S. Paulo

O mecanismo da infecção e da immunidade no carbunculo, que os antigos trabalhos de PASTEUR, CHAMBERLAND & ROUX, METCHNICOV, NUTTALL, MARCHOUX, SAVTCHENKO, BEHRING, SOBERNHEIM, ASCOLI, etc. pareciam haver completamente esclarecido, apresenta, todavia, ainda numerosas questões a elucidar.

BESREDKA (1921) teve o merito de chamar a attenção para o papel peculiar que desempenha a pelle na infecção e na immunidade anticarbunculosa. Para esse autor, o carbunculo é essencialmente um processo local da pelle; a septicemia seria secundaria a uma cuti-intoxicação, que favoreceria a invasão dos germes, protegendo-os contra os phagocytos.

As conclusões de BESREDKA não foram, entretanto, acceitas por grande numero de autores; um de nós, mesmo (O. B.), teve já occasião de fazer um estudo critico dos argumentos invocados por aquelle autor para fundamentar a sua theoria da immunidade local, mostrando que os factos verificados por BESREDKA pódem, com maior economia de hypotheses, ser interpretados á luz de conhecimentos perfeitamente adquiridos sobre os factores geraes da immunidade.

Em particular, o argumento crucial de BESREDKA, a saber, o desenvolvimento de uma solida immunidade na absoluta ausencia de anticorpos humoraes, é contrariado não só pela nitida acção protectora do sôro anticarbunculoso, como tambem pela recente verificação de WOLLMAN & BARDACH (1936) de que, pela transfusão de uma quantidade abundante de sangue, é possivel conferir passivamente a immunidade anticarbunculosa de coelhos cuti-vaccinados a coelhos novos.

Em recente trabalho, SUAREZ & ARMIJO salientam o facto de que o *B. anthracis* apresenta uma dualidade funccional, o *germe de cultura*, que não é directamente pathogenico, nem immunogenico e o *germe pathogenico*, resultante de uma transformação do primeiro *in vivo* e que é responsavel pela septicemia carbunculosa e possuidor de uma constituição antigenica apta a solicitar uma solida immunidade.

Dentro desta ordem de idéas, a pelle desempenharia sómente o papel de favorecer a transformação do germe de cultura na variedade pathogenica, donde o successo da cuti-vaccinação.

Certas substancias, como por exemplo, a saponina (MAZZUCHI) e a digitonina (HRUSKA), criam no tecido subcutaneo condições semelhantes áquellas que a bacteridia carbunculosa encontra na pelle, isto é, capazes de conferir ao germe uma aggressividade tal que elle se torna incapaz de matar o animal por septicemia, porém retém a propriedade de solicitar a formação de anticorpos protectores.

No presente trabalho, procurámos investigar as seguintes questões, ainda não esclarecidas, do mecanismo da infecção e da immunidade no carbunculo:

I) De que maneira actúa o sôro especifico no impedimento da septicemia carbunculosa.

II Quaes os factores em jogo na conversão do *germe de cultura na variedade virulenta immunogenica.*

As pesquisas sobre o modo de acção do sôro anticarbunculoso foram feitas injectando-se em cobayas uma dose seguramente protectora de um sôro carbunculoso activo (preparado segundo a technica preconisada por SORDELLI e collaboradores, por meio de hyperimunisação de cavallos com a amostra capsulada «Wil»), reinfectando-as 24 horas após com doses variaveis de germes virulentos e verificando, em animaes sacrificados em tempos diversos, a evolução da septicemia.

Para investigar a segunda questão, procurámos verificar uma peculiaridade qualquer em dois tecidos nos quaes se processa a animalização da bacteridia em condições optimas para o organismo, isto é, de modo a fornecer um germe de virulencia reduzida, porém dotado de alto poder vaccinante. Os tecidos em questão são a pelle e o tecido inflammatorio produzido pela injecção de saponina.

Conseguimos pôr em evidencia dois factos experimentaes que, embóra de modo não exclusivo, devem ser tomados em consideração como factores determinantes da modificação que soffre a bacteridia carbunculosa na pelle e no edema provocado pela saponina, conferindo-lhe as caracteristicas do *germe virulento immunogenico.*

Acção do sôro especifico na evolução da septicemia carbunculosa

As pesquisas referidas neste capitulo foram precedidas de uma série de experiencias prévias, nas quaes procuramos verificar contra quantas doses mortaes minimas de carbunculo virulento «Wil» é capaz de proteger a injecção intraperitoneal de 5 cc. de sôro carbunculoso.

A dosagem do sôro carbunculoso é commumente feita por nós segundo a technica indicada por SORDELLI e col., isto é, em relação a 20 d. m. m. da amostra virulenta «Wil», injectadas por via subcutanea.

Injectando em uma série de cobayas, 5 cc. de sôro no peritoneo e 24 horas depois, doses variaveis de germes virulentos, verificamos: protecção indefinida para 20 d. m. m. (a cobaya controle, que recebe 20 d. m. m. e não é protegida com sôro morre dentro de 3 dias); morte em 6 dias do animal injectado com 20.000 d. m. m.; em 8 dias, do inoculado com 2.000 e em 9 dias, do injectado com 200 d. m. m.

Procuramos, em seguida, observar o desenvolvimento da septicemia carbunculosa, em cobayas protegidas com a mesma dose de sôro (5 cc.) e infectadas:

I) com 20 d. m. m. (protecção absoluta);

II) com 200 d. m. m. (protecção parcial).

Os animaes foram sacrificados com intervallos variaveis entre 6 e 72 horas após a infecção, feitas semeaduras em placa de agar do figado e do baço e reacções de precipitação com extractos dos mesmos orgãos.

Os resultados obtidos estão resumidos nas tabellas 1 e 2.

TABELLA 1

Desenvolvimento da septicemia em cobayas injectadas por via subcutanea com 20 d. m.m. de carbunculo «Wil» e previamente injectadas no peritoneo com 5 cc. de sôro normal ou sôro carbunculoso

Cobaya n.°	Sacrificada após	Baço		Figado		Edema no ponto de inoculações
		Semeadura	Ascoli	Semeadura	Ascoli	
		a) Injectadas com sôro normal				
499	6 horas	—	—	—	—	+
501	12 »	—	—	—	—	—
500	18 »	—	—	—	—	—
202	24 »	1 colonia +	—	16 colonias ++	—	+
503	48 »	n.º incontavel de colonias +++	+	n.º incontavel de colonias +++	+	+
504	72 »	» +++	+	» +++	+	+
558	morte espontanea em cêrca de 60 horas	» +++	+	» +++	+	+
		b) Injectadas com sôro carbunculoso (1)				
506	6 horas	—	—	—	—	—
508	12 »	—	—	—	—	—
507	18 »	—	—	—	—	—
509	24 »	—	—	—	—	—
559	48 »	—	—	—	—	—
511	72 »	—	—	—	—	—
512	Sobreviveu					

(1) Algumas cobayas, sobretudo as cobayas 509 e 511, logo após a injecção intraperitoneal de sôro carbunculoso mostraram graves symptomas anaphylactoides (choque produzido pelo anticorpo de Forssmann?).

TABELLA 2

Desenvolvimento da septicemia em cobayas injectadas por via subcutanea com 200 d.m.m. de carbunculo «Wil» e previamente injectadas no peritoneo com 5 cc. de sôro normal ou sôro carbunculoso

Cobaya n.º	Sacrificada após	Baço		Figado		Edema no ponto de inoculação
		Semeadura	Ascoli	Semeadura	Ascoli	
		a) Injectadas com sôro normal				
560	6 horas	—	—	—	—	—
561	12 »	—	—	—	—	—
562	18 »	—	—	—	—	+
563	24 »	65 colonias +++	—	6 colonias	—	+
565	48 »	n.º incontavel de colonias +++	+	n.º incontavel de colonias +++	+	+
564	morte espontanea em cêrca de 60 horas	» +++	+	» +++	+	+
566	morte espontanea em cêrca de 48 horas	» +++	+	» +++	+	+
		b) Injectadas com sôro carbunculoso				
567	6 horas	—	—	—	—	—
568	12 »	—	—	—	—	—
569	18 »	—	—	—	—	—
570	24 »	numerosas colonias ++	—	—	—	—
571	48 »	—	+	—	—	—
572	72 »	—	+	—	—	—

A analyse das tabellas precedentes permitte algumas conclusões interessantes:

1.º — Ha um certo parallelismo entre o tempo de apparecimento do edema e o inicio da septicemia. Isso indica que, apparentemente, os primeiros germes que saem do ponto de inoculação são destruidos na corrente circulatoria ou em outros pontos do organismo, e que, conforme suggerem SUAREZ & ARMIJO, [1] *os germes que vão causar a septicemia são os que saem do edema.*

2.º — O sôro carbunculoso age impedindo a multiplicação dos germes no organismo. Nos animaes protegidos de modo absoluto

[1] No decurso das nossas experiencias não tivemos opportunidade de verificar o facto accentuado por SUAREZ & ARMIJO de que, muito precocemente, antes de se obtêr semeadura positiva, consegue-se demonstrar a presença de precipitinogenio nos orgãos por meio da reacção de Ascoli. Como a technica que usámos para o preparo dos extractos foi semelhante á empregada por SUAREZ & ARMIJO, attribuimos a discordancia a uma differença relativa ao sôro precipitante.

pelo sôro (nos injectados com 20 d. m. m.), em nenhuma occasião, desde o momento da inoculação até o tempo de morte do controle (cêrca de 3 dias) foi possivel demonstrar bacillos no baço ou no figado, quer pela semeadura, quer pela reacção de Ascoli.

Nas cobayas protegidas parcialmente (injectadas com 200 d. m. m.), parece haver um retardamento da proliferação dos bacillos, que se inicia sómente após 48 horas de (reacção de Ascoli positiva no baço).

Si essa inhibição da multiplicação dos germes nos animaes injectados com sôro é devida a uma acção directa ou a um favorecimento da phagocytose, as nossas proprias experiencias nada permittem affirmar.

Em numerosos cortes histologicos corados pelo methodo de GOODPASTURE, do figado, baço, rim e intestino dos animaes de que tratam as tabellas precedentes, nenhuma differença pudemos observar quanto á intensidade da phagocytose nos animaes protegidos parcialmente pelo sôro carbunculoso e nos injectados com sôro normal. O sôro carbunculoso retarda apenas a infecção produzida por 200 d. m. m. «Wil», porém uma vez iniciada a septicemia, a infecção progride como nos animaes controles e o quadro microscopico em relação ao numero de bacillos e á quantidade de bacillos livres ou englobados por elementos do S. R. E. é praticamente o mesmo.

Igualmente não pudemos verificar com a bacteridia carbunculosa o phenomeno da agglutinação intravasal observado por BIELING em camondongos injectados com sôro antipneumococcico e superinfectados com pneumoccocos virulentos.

Desenvolvimento de lesões hemorrhagicas ao nivel do edema provocado pela saponina após injecção venosa de filtrados bacterianos Schwartzmann-activos

Um lote de 24 coelhos é inoculado sob a pelle do abdome com 2 cc. de uma solução a 0,5 % de saponina purificada MERCK. Depois de 24 horas, em 12 coelhos injecta-se na veia 1 cc. de filtrado typhico ou typho-meningococcico previamente verificado em relação á sua capacidade de desencadear o phenomeno de SCHWARTZMANN; os outros 12 coelhos permanecem como testemunhas, isto é, nada se lhes injecta na veia.

Após mais 24 horas, todos os animaes são sacrificados e necropsiados afim de se observar o aspecto da reacção local ao nivel da injecção de saponina. Tres foram os typos de reacção observados: 1.º — área central de necrose cercada de um edema mais ou menos extenso e congesto. 2.º — lesão semelhante á precedente, porém apresentando nas margens do edema um leve pontilhado hemorrhagico.

3.º — necrose central, edema em torno e extensa lesão hemorrhagica diffusa ou em pontilhado.

Os typos (1) e (2) de reacção foram consignados na tabella 3 pelos signaes — e +; a reacção acompanhada de extensa hemorrhagia foi designada por ++, quando se trata apenas de um pontilhado hemorrhagico abundante em redor do edema e por +++, quando ha lesão hemorrhagica confluente.

TABELLA 3

Lesões hemorrhagicas ao nivel do edema produzido pela saponina em coelhos injectados na veia com filtrado typhico e em coelhos testemunhas

Coelho n.º	Resultado após inoculação subcutanea de saponina seguida de injecção venosa de filtrado typhico	Coelho n.º	Resultado após a injecção subcutanea de saponina sem injecção venosa de filtrado (controles).
460	++	657	—
461	—	658	—
462	++	659	—
463	+++	660	—
720	+++	723	+
721	+	724	—
850	—	828	—
852	—	874	—
854	++	875	—
855	—	876	—
856	++	877	+
858	++	878	—

Dos 12 animaes que receberam filtrado na veia, 7 apresentaram lesões hemorrhagicas ao redor da reacção produzida pela saponina, ao passo que os 12 coelhos testemunhas, que não receberam filtrado, apresentaram apenas a reacção propria da saponina, isto é, necrose central, edema gelatinoso e congestão. Só um delles apresentou discreto pontilhado hemorrhagico ao redor do edema.

Esses resultados indicam claramente que o edema constituido pela injecção de saponina representa uma área preparada, sobre a qual os factores reactivos dos filtrados bacterianos capazes de desencadear o phenomeno de SCHWARTZMANN determinam o apparecimento de lesões hemorrhagicas.

Papel do edema provocado pela injecção de saponina no tempo de apparecimento da hypersensibilidade infecciosa ao B. anthracis

Pareceu-nos tambem interessante investigar si o edema formado pela injecção de saponina seria capaz de provocar um estado de irritabilidade allergica, de modo a favorecer o desenvolvimento da allergia infecciosa ao *B. anthracis*.

Com effeito, os trabalhos de MAZZUCHI indicam que após a injecção de Carbozoo desenvolve-se rapidamente em cabras uma cutireacção do typo da tuberculina a um extracto de bacillos carbunculosos.

Dois lotes de 10 bezerros foram inoculados com uma dose igual de *B. anthracis* (1 milhão de esporos da vaccina II) suspensos em 1 cc. de sol. 50 % de glycerina ou em 0,5 cc. de sol. de saponina a 2,5 %.

Tres e seis dias após, 5 animaes de cada lote são submettidos á intradermoreacção (na prega subcaudal) com um extracto de bacillo carbunculoso «Wil».

Os resultados estão consignados nas tabellas 4 e 5.

TABELLA 4

Intradermoreacção ao filtrado «Will» em bezerros inoculados tres dias antes com vaccina carbunculosa glycerinada ou saponinada.

Nome do animal	Vaccina injectada	Reacção local 24 horas após injecção da vaccina. 25-5-36.	Resultado da reacção allergica. 26-5-26.
Filho de:			
Japoneza . . .	0,5 cc. de vaccina saponinada.	Edema apreciavel	++
Graúna. . . .	»	»	++
Mansinha . . .	»	Reacção insignificante	+
Roseira . . .	»	Edema apreciavel	++
Figurona . . .	»	»	+
Charleta . . .	1,0 cc. de vaccina glycerinada.	Não apresentou reacção	—
Aurora	»	Edema pouco extenso	—
Primeira . . .	»	»	—
Melindrosa . .	»	Reacção insignificante	—
Barquinha. . .	»	»	—

++ — Espessamento apreciavel e vermelhidão da prega subcaudal.
+ — Ligeiro espessamento da prega subcaudal.
— — Reacção negativa.

TABELLA 5

Intradermoreacção em bezerro inoculados seis dias antes com vaccina carbunculosa glycerinada ou saponinada.

Nome do animal	Vaccina injectada 25-5-36.	Resultado da reacção allergica. 29-5-36
Filho de:		
Brasina . . .	0,5 cc. de vaccina saponinada.	+
Graúna . . .	»	—
Baietona . . .	»	++
Tubarana . . .	»	++
Figurona . . .	»	—
Chaleira . . .	1.0 cc. de vaccina glycerinada.	+
Perdiz	»	+
Trigueira . . .	»	+
Fartura. . . .	»	++
Cigana	»	—

O edema provocado pela saponina apressa pois, o apparecimento da allergia ao *B. anthracis*, que se verifica já após tres dias nos animaes injectados com vaccina saponinada e só se desenvolve após seis dias nos bezerros injectados com vaccina glycerinada.

Occurrencia, nos extractos de pelle normal, de um factor que augmenta a permeabilidade capillar

No decurso de pesquisas sobre as modificações da permeabilidade capillar no phenomeno de SCHWARTZMANN, tivemos opportunidade de verificar que não só os extractos de pelle ao nivel da reacção hemorrhagica, como os da pelle normal, quando inoculados intradermicamente, tinham a propriedade de provocar o accumulo de uma solução de azul de trypan injectada na veia.

As experiencias foram conduzidas de accordo com a technica indicada por MENKIN; injecção intradermica de 0,5 cc. de extracto na pelle epilada do coelho (epilação feita na vespera, evitando qualquer irritação da pelle), seguida de injecção venosa de 5-10 cc., conforme o peso do animal, de uma solução a 1 % de azul de trypan. Leitura dos resultados após 20 minutos.

Fazendo-se com a mesma technica (triturar o material com areia e ajuntar o dobro do peso em volume de agua physiologica, separar o extracto por centrifugação) extractos de varios orgãos do coelho, obtém-se reacção positiva, isto é, nitido accumulo do corante sómente ao nivel da injecção de extracto de pelle. Os demais extractos (musculo, peritoneo, figado, rim, baço e pulmão) mostraram-se totalmente inactivos.

Com o intuito de verificar si o factor existente nos extractos de pelle era identico ao factor descripto por MENKIN nos exsudatos inflammatorios, pesquisamos si os extractos cutaneos conservavam a sua actividade após o aquecimento a 100º e após a precipitação pelo sulfato de ammonio em semisaturação. A 50 cc. de extracto total de pelle de cobaya addicionam-se 50 cc. de sol. saturada de sulfato de ammonio. Centrifuga-se: o liquido sobrenadante é designado como Fracção I. O sedimento é, então, dissolvido em 5 cc. (Fracção II, concentrada 10 vezes) ou em 10 cc. (Fracção III, concentrada 5 vezes) de agua physiologica.

Os resultados observados (tabella 6) indicam que o factor existente nos extractos de pelle é, da mesma maneira que o isolado por MENKIN dos exsudatos inflammatorios, resistente a 100º e precipitado pelo sulfato de ammonio em semisaturação.

TABELLA 6

Caracteristicas do factor que augmenta a permeabilidade capillar existente nos extractos de pelle normal.

Extracto	Resultado após 20 minutos
Extracto total de pelle fresco . .	+++
Extracto total de pelle, 100º 30'. .	+++
Extracto total de pelle, 100º 15'. .	+++
Extracto total de pelle, 100º 5'. .	+++
Fracção I (sulfato de ammonio) . .	Reacção typica produzida pelo sulfato de ammonio. (1)
Fracção II (concentrada 10 vezes) .	++++
Fracção III (concentrada 5 vezes) .	++++
Agua physiologica	—

(1) Area central vermelha cercada de halo azul.

MENKIN assignala a existencia deste factor em fraca concentração no sôro sanguineo: precipitando-se o sôro com sulfato de ammonio em semisaturação, o sedimento resuspenso em agua physiologica ou é inactivo ou provoca apenas um discreto accumulo do corante.

Extractos de pelle de coelho ou de cobaya, sem nenhum processo de concentração, produzem com regularidade um nitido accumulo de corante nas áreas cutaneas onde são injectados.

DISCUSSÃO

Os factos experimentaes communicados neste trabalho, completando os resultados referidos por outros autores, levam-nos, sem querer affirmar verdades definitivas, á seguinte concepção do mecanismo da infec-

ção e da immunidade no carbunculo: O *B. anthracis,* quando inoculado por via subcutanea na cobaya, provoca a formação de um edema que, segundo as pesquisas de GRATIA e LINZ, representa uma área sensibilizada para a acção dos factores que desencadeiam o phenomeno de SCHWARTZMANN.

Esse edema representa um elemento de defesa contra a bacteridia e falta nos casos de infecções por amostras supervirulentas.

O edema funcciona, pois, como um filtro que sómente deixa passar os germes mais virulentos; é do edema que sáe o *germe virulento immunogenico,* seleccionado da população bacteriana inoculada, constituida predominantemente pelo *germe de cultura.*

O mecanismo pelo qual se opera essa selecção ao nivel do edema póde, á luz dos trabalhos recentes de OPIE, MENKIN e outros, ser filiado á acção que exercem os fócos inflammatorios em geral, retendo os antigenos e outras particulas colloidaes ahi injectados.

Particularmente, no que concerne á infecção carbunculosa, os trabalhos já antigos de AFANASSIEV, NÖTZEL, JUNGELMANN, etc., mostram que o bacillo do carbunculo não é capaz de atravessar o tecido de granulação.

Esse facto explica por que não se consegue infectar a cobaya pelo *B. anthracis* quando se introduzem os germes em um pequeno tubo de vidro que é deposto no tecido subcutaneo e quebrado sómente após perfeita cicatrização da ferida cutanea. Tal experiencia, realizada pela primeira vez em 1905 por DONATI e repetida posteriormente por BALTEANO (1922) e por PLOTZ (1924), é interpretada por BESREDKA como uma evidencia favoravel á idéa de que o carbunculo é uma infecção exclusiva da pelle.

Todavia, como bem acentúa DONATI, a introducção de um tubo de vidro no tecido subcutaneo e, posteriormente, o estilhaçamento deste tubo, com a laceração tissular consequente, determinam a formação de um processo inflammatorio intenso (hyperemia, augmento da permeabilidade capillar, migração leucocytaria, libertação de fermentos, modificações locaes do pH, etc.) que, por si só, explica a não generalização do processo infeccioso.

Effeito analogo produz a saponina. E' interessante notar, porém, que esta substancia produz a formação de um edema que, do mesmo modo que o edema do carbunculo, constitue uma área sensibilizada para a acção dos filtrados SCHWARTZMANN — activos.

Essa coincidencia merece ser assignalada, tanto mais quanto numerosas substancias capazes de provocar vivas reacções inflammatorias, como o caldo, a terebenthina, oleo de parafina, terra de infusorios,

acido silicico, caseina, etc., são, entretanto, destituidas de poder preparante para o phenomeno de SCHWARTZMANN.

Ora, a existencia de taes áreas inflammatorias sensibilizadas determina profundas modificações do comportamento do organismo, do ponto de vista immunologico.

E' sabido, por exemplo, que a infecção tuberculosa é capaz de exaltar a producção de anticorpos, nomeadamente de agglutininas e hemolysinas (LEWIS e LOOMISS).

Do mesmo modo, o desenvolvimento da allergia infecciosa é nitidamente favorecido pela presença do granuloma tuberculoso; DIENES e SCHÖNHEIT demonstraram, com effeito, que a injecção de ovoalbumina, de sôro de cavallo, etc., na cobaya tuberculosa, condiciona o desenvolvimento de uma cutisensibilidade a esses antigenos, que corresponde, em todas as suas caracteristicas, á cutisensibilidade á tuberculina. Nas mesmas condições, as cobayas não tuberculosas desenvolvem uma sensibilidade do typo anaphylatico. Esses resultados devem ser approximados do facto, por nós verificado, de que, em bezerros inoculados com vaccina carbunculosa saponinada, o desenvolvimento da hypersensibilidade (typo tuberculina) ao *B. anthracis* se opera mais promptamente que nos animaes injectados com vaccina glycerinada.

A inoculação de saponina provoca a formação de um tecido inflammatorio que exerce sobre o desenvolvimento da allergia ao *B. anthracis* a mesma acção favorecedora que o granuloma tuberculoso na producção da hypersensibilidade typo tuberculina á ovalbumina, nas experiencias de DIENES.

Na mesma ordem de idéas, PAUL BORDET verificou que a injecção intradermica ou subcutanea de certos filtrados bacterianos (extracto *coli)* ou de terebenthina, provoca, na cobaya, o apparecimento de um estado de labilidade serica semelhante ao que occorre na tuberculose, exteriorisado notadamente pela reacção de floculação de Vernes e pelo augmento da velocidade de hemosedimentação. Tambem o teor de alexina do sôro augmenta, nessas condições (NESTORESCU, BORDET), o que, ao lado do estado de *irritabilidade allergica* (augmento da producção de anticorpos; desenvolvimento facilitado da allergia infecciosa), é um factor que deve ser tomado em consideração para explicar a immunidade inespecifica que se gera no organismo onde existem certas áreas inflammadas (granuloma tuberculoso, abcessos produzidos pela terebenthina, pela tapioca, edema da saponina, etc.).

Comprehende-se, pois, que a saponina, produzindo um fóco inflammatorio com a caracteristica de ser uma área sensivel aos factores desencadeantes do phenomeno de SCHWARTZMANN, possa, não só criar uma barreira que se oppõe á generalização do germe, como tambem

produzir um reforço da immunidade determinada pelo antigeno que emana do fóco inflammatorio.

Quanto á cuti-infecção e á cuti-immunidade no carbunculo, devem ser comprehendidas pelo facto de realizar a pelle uma selecção das bacteridias no mesmo sentido da que se opera ao nivel do edema provocado pela saponina.

Como é sabido, a inoculação intracutanea é mais severa que as outras vias de inoculação, no que concerne ao carbunculo. Isso é apparentemente devido ao lento affluxo leucocytario no interior da pelle (GRATIA, GAY), o que permitte que as bacteridias se animalizem e possam, desse modo, resistir aos phagocytos que occorrem posteriormente ao fóco cutaneo.

Consequentemente, uma cultura de virulencia relativamente baixa, como a vaccina I de PASTEUR, quando inoculada intracutaneamente, é capaz de fornecer germes mais virulentos e, parallelamente, mais antigenicos, ao passo que, injectada subcutaneamente, é promptamente phagocytada e nenhuma reacção immunisante solicita.

Os germes animalizados que se geram no fóco cutaneo provocam uma viva reacção inflammatoria, a qual opera uma selecção dos germes mais virulentos.

Assim, pois, a cuti-vaccinação conduz, por um mecanismo differente, ao mesmo resultado final que a injecção de bacillos virulentos suspensos em saponina, isto é, *bacillos relativamente de alta virulencia no seio de um tecido inflammado.*

O mecanismo pelo qual o tecido inflammado, agindo sobre os bacillos virulentos immunogenicos, condiciona o desenvolvimento da immunidade, sem pôr em risco a vida do animal, não póde ainda ser esclarecido.

RAMON e STAUB, comparando a immunidade anticarbunculosa á immunidade antidiphterica, suggerem que o fóco inflammatorio constituido pela injecção de lanolina faz com que os bacillos, á medida que sáem da lanolina, secretem uma substancia antigenica (toxina? endotoxina? aggressina de Bail?), a qual, depois de ter soffrido uma acção modificadora pelos elementos inflammatorios locaes, passa para o sangue e vae provocar o apparecimento do anticorpo especifico.

O essencial na vaccinação anticarbunculosa, segundo RAMON e STAUB, é a germinação de bacillos *in vivo*, no seio de um tecido inflammado. A virulencia do germe vaccinante não precisaria ser elevada: RAMON e STAUB referem ter obtido immunização rapida e solida do carneiro mediante a inoculação de uma vaccina preparada com a amostra I de PASTEUR suspensa em uma solução de gelose e alume.

Outra hypothese que tambem deve ser tomada em consideração e que, a nosso vêr, não é a menos provavel, consiste em admittir que atravez do tecido inflammado filtrem *germes immunogenicos*, porém incapazes de infectar, ou porque modificados em sua virulencia pela acção de certos factores accumulados no fóco inflammatorio, ou por serem em dose sub-infectante para o organismo que, á custa mesmo da reacção inflammatoria, teria a sua resistencia inespecificamente augmentada.

Esse modo de ver baseia-se no facto de que a vaccinação anti-carbunculosa só se dá em condições de uma infecção benigna, não devendo, pois, haver uma differença essencial entre o que acontece na infecção e o que tem logar na vaccinação: em ambos os casos filtrariam atravez do edema germes dotados do complexo virulencia-antigenicidade, que não possuem os *germes de cultura.*

Troger, em 34 coelhos vaccinados pelo Carbozoo, encontrou, em 2 delles, bacillos do carbunculo nos ganglios visinhos do ponto de inoculação; isso indica que os bacillos não são em sua totalidade retidos no edema provocado pela saponina.

Dienes e Schoenheit salientam o forte poder antigenico de proteinas injectadas directamente dentro de ganglios tuberculosos, no coelho. Segundo esses autores, o antigeno não é retido ao nivel da lesão, porém abandona-a pouco tempo depois de ter sido injectado dentro do ganglio; com effeito, a extirpação do ganglio 30 minutos após a injecção não affecta a producção de precipitinas contra a proteina inoculada.

Para Dienes e Schoenheit o tecido inflammado possue um certo mecanismo, por meio do qual o effeito de um antigeno é augmentado quando absorvido atravez da lesão.

Pesquizas complementares são necessarias para consubstanciar uma das hypotheses referidas. Em particular, a acção de factores contidos nos exsudatos inflammatorios sobre a antigenicidade, merece ser especialmente investigada.

A existencia de um factor no edema provocado pela infecção carbunculosa e que favorece o poder antigenico do *B. anthracis,* é indicada pelos trabalhos de Hruska, que refere ter obtido um sôro anti-carbunculoso potente pela inoculação de culturas de bacillo do carbunculo de mistura com o liquido de edema rico em *agressinas.*

Tivemos a opportunidade de verificar que na pelle normal existe em forte concentração, um factor analogo, se não identico, ao descripto por Menkin nos exsudatos inflammatorios e que augmenta a permeabilidade capillar. E' possivel que a occurrencia de tal factor não seja

sem interesse para explicar certas peculiaridades immunobiologicas da pelle, sobretudo no que diz respeito á formação de anticorpos.

CONCLUSÕES

1. O desenvolvimento da immunidade no carbunculo se dá nas condições de uma infecção benigna e parece depender, como suggerem SUAREZ & ARMIJO, não dos germes do *inoculum,* mas de um germe animalizado que se gera *in vivo (germe virulento immunogenico).*

2. A cutivaccinação realiza condições semelhantes ás produzidas pela injecção de bacillos suspensos em saponina: em ambos os casos forma-se um fóco inflammatorio no seio do qual se desenvolvem germes immunogenicos.

3. O facto de ser o tecido inflammatorio produzido pela injecção de saponina uma área preparada para os factores reactivos dos filtrados bacterianos SCHWARTZMANN-activos, suggere um augmento da immunidade inespecifica e um estado de irritabilidade allergica, que explicam o reforço da immunidade obtido com as vaccinas saponinadas. Effectivamente, em bezerros inoculados com vaccina carbunculosa saponinada, a hypersensibilidade infecciosa ao *B. anthracis* apparece mais rapidamente do que nos injectados com vaccina glycerinada.

4. Existe nos extractos de pelle normal um factor que augmenta a permeabilidade capillar, tal como o isolado por MENKIN de exsudatos inflammatorios. A occurrencia desse factor talvez não seja sem interesse para explicar certas peculiaridades immunobiologicas da pelle, sobretudo no que concerne á producção de anticorpos.

5. A significação desse facto é discutida em relação com o mechanismo da infecção e da immunidade anticarbunculosa.

No estudo da efficiencia das vaccinas saponinadas em bovinos, especialmente em relação com o desenvolvimento da allergia infecciosa, muito apreciamos a collaboração do Dr. Gabriel de Carvalho, veterinario do Instituto, a quem aproveitamos a opportunidade para agradecer.

ABSTRACT

1. The development of the immunity in anthrax takes place under conditions of a mild infection and apparently does not depend on the germs contained in the inoculum, but on an animalised germ generated in vivo (virulent immunogenic germ), as suggested by SUAREZ *and* ARMIJO.

2. The cuti-vaccination develops conditions similar to those produced by the injection of germs suspended in saponin; in both cases, an inflammed area is formed in which immunogenic germs are generated.

3. The inflammed tissue produced by the injection of saponin is vulnerable to the action of the reacting factors of the bacterial extracts that induce the SCHWARTZMANN *phenomenon. This fact suggests an explanation for the increase of the unspecific immunity and the allergic irritability responsible for the high efficacy of the saponined vaccines. As a matter of fact, in calves inoculated with anthrax saponined vaccine, the infectious hypersensitivity to B. anthracis appears quicker than in those injected with glycerinated vaccine.*

4. In extracts of normal skin there is a factor which increases the capillary permeability, similar to the one isolated by MENKIN *from inflammatory exsudates. The occurrence of this factor should perhaps be taken into consideration in order to explain certain immunological peculiarities of the skin, especially in connection with the production of antibodies.*

5. The significance of these facts is discussed in relation with the mechanism of the infection and the immunity in anthrax.

BIBLIOGRAPHIA

1 — BIELING, R. — 1936 — Untersuchungen über die Wirkungsweise des Pneumokokkenserums. Sep. *Medizin und Chemie,* **3**, 1-17.

2 — BIER, O. G. — 1934 — A immunidade local no carbunculo. *Folia clinica et biologica,* **6**, 167-173.

3 — BORDET, J. — 1920 — *Traité de l'Immunité dans les maladies infectieuses.* Paris. *Cf.* pp. 676-677.

4 — BORDET, P. — 1936 — Contribution á l'etude de l'allergie (Premier Mémoire) *An. Inst. Past.* **56**, 325-353. (Deuxiéme mémoire). *An. Inst. Past.* **57**, 357-399.

5 — CLARK, A. R. — 1935 — The anthrax Bacillus. *In* Gay, F. et al. *Agents of Disease and Host Resistance. Baltimore. Cf.* pp. 753-781.

6 — DIENES, L. — 1930 — Ueber die Wirkung des tuberkulösen Krankheitsherdes auf die Immunitätsreaktionen des Organismus. *Zeitschr. f. Immunitätsf.* **68**, 13-42.

7 — DIENES, L. & SCHOENHEIT, E. W. — 1930 — Certain Characteristics of the Infectious Processes in Connection with the Influence exerted on the Immunity Response. *Jour. Immunol.* **19**, 41-61.

8 — DONATI, A. — 1934 — Sulla Infezione e Immunitá al Carbonchio. Considerazione critiche sulla teoria di Besredka. *Folia clinica et biologica,* **6**, 257-262.

9 — GAY, F. — 1935 — Tissue Immunity. *In* Gay, F. et al. *Agents of Disease and Host Resistance. Baltimore. Cf.* pp. 444-453.

10 — MAZZUCCHI, M. — 1934 — Relazione sulla profilassi nel carbonchio e sull'applicazione di un nuovo metodo di vaccinazione. *Profilassi,* **7**, 373-383.

11 — METCHNIKOV, E. — 1901 — *L'Immunité dans les maladies infectieuses.* Paris. *Cf.* pp. 251-255.

12 — RAMON, G. & STAUB, A. — 1936 — Essais sur l'immunisation contre le charbon. Sur une nouvelle forme de vaccination charbonneuse. *Rév. d'Immunologie,* **5**, 401-414.

13 — SCHWARTZMANN, G. — 1932 — Phenomenon of Local Skin Reactivity to Bacterial Filtrates. Formation of Reacting Factors in vivo. *Journ. exp. med.* **56**, 687-703.

14 — SUAREZ, E & ARMIJO, E. — 1936 — Estudios sobre carbunclo I. La Enfermedad experimental. *Revista del Inst. bacteriologico de Chile.* **5**, 3-16.

15 — TROGER, C. — 1932 — Dimostrazione di baccilli del carbonchio dopo la vaccinazione preventiva col «Carbozoo». Sep. *La clinica Veterinaria,* **10**, 1-13.

16 — WOLLMAN, E. & BARDACH, M. — 1936 — Vaccination anticharbonneuse par voie intracutanée et anticorps. *Comp. Rend. Soc. Biol.* **122**, 741-744.



Vol. 8 — Art. 9 Dezembro de 1937

ESTUDOS SOBRE CARBUNCULO

II - ENSAIOS SOBRE A PURIFICAÇÃO DO SÔRO ANTICARBUNCULOSO

POR

O. Bier & M. Rocha e Silva

Trabalho do Instituto Biologico de S. Paulo

Sobre a purificação do sôro anticarbunculoso, encontram-se poucos trabalhos na literatura.

SORDELLI, BELTRAMI, HARISPE & FRANCESCHI mostraram que pela dissolução a 1/10 do sôro carbunculoso, em agua distillada, saturada de CO_2, obtem-se um precipitado de globulinas insoluveis, o qual encerra a totalidade das precipitinas e dos anticorpos protectores, ao passo que o liquido sobrenadante é completamente inactivo.

Posteriormente, WERNICKE & MODERN verificaram que a diluição a 1/5, em agua distillada, sem addição de CO_2, precipita a totalidade das precipitinas, apresentando a vantagem de acarretar menor precipitação de globulinas (mesmo titulo precipitante — 1/80 — para uma differença na quantidade total de proteinas no sôro concentrado, de 1,39 %, no sôro tratado pela agua saturada de CO_2, contra 0,87 % no sôro precipitado pela agua sem addição de CO_2).

Segundo MODERN & WERNICKE, o methodo de FELTON, para purificação do sôro antipneumococcico, não pode ser applicado ao sôro carbunculoso, pois conduz a uma dispersão dos anticorpos nas varias fracções. Segundo aquelles autores, o methodo conveniente, para purificação do sôro anticarbunculoso, é a diluição fraccionada com agua distillada: ao envez de diluir directamente o sôro a 1/10, faz-se primeiro uma diluição a 1/3 (o que precipita uma grande quantidade de proteinas inactivas) e depois completa-se o volume para dar uma diluição a 1/10. Obtem-se, desse modo, um precipitado que contem a totalidade dos anticorpos protectores, em uma quantidade vinte vezes menor de proteinas.

No presente trabalho, ensaiamos purificar o sôro anticarbunculoso, usando a modificação de BANZHAF-KLEIN do methodo de concentração de FELTON, para o sôro antipneumococcico.

A verificação da actividade das varias fracções foi feita por meio de test de precipitação, com o polysaccharideo especifico, preparado segundo a technica de TOMCSIK & SZONGOTT.

Ensaios previos para determinação do pH optimo para precipitação das globulinas especificas do sôro anticarbunculoso

A 100 cc. de sôro anticarbunculoso addicionam-se 900 cc. de agua distillada; o precipitado obtido é separado, no dia seguinte, mediante centrifugação e redissolvido em 25 cc. de agua physiologica (concentração de 4 vezes).

A uma serie de tubos addicionam-se 2 cc. da solução de precipitinas assim obtida, mais 8 cc. de agua distillada e gottas de HCl ou NaOH n/10.

Após permanencia de uma noite na geladeira, determina-se electrometricamente o pH do liquido sobrenadante de cada um dos tubos, bem como verifica-se a presença de precipitinas, por meio do polysaccharideo.

TABELLA 1

pH optimo para a precipitação das globulinas especificas do sôro anticarbunculoso

Tubos	1	2	3	4	5	6	7	8
pH	8,0	7,65	7,4	7,15	6,6	6,45	5,85	5,7
precipitinas no sobrenadante	+	—	—	+ —	++	++	++++	++++

Diluindo-se, pois, a 1/5 em agua distillada, uma solução de globulinas do sôro carbunculoso, as globulinas especificas precipitam, esgotando o sôro, nas proximidades de pH 7,5.

No ensaio seguinte procuramos verificar si existe um pH no qual precipitam relativamente mais immune-globulinas do que globulinas inespecificas.

Quantidade relativa de globulinas especificas e inespecificas em fracções do sôro precipitadas em diversos pH

Fracções de globulinas insoluveis do sôro, em varios pH, foram obtidas da maneira seguinte: a uma série de quatro frascos addicionaram-se 10 cc. de sôro anticarbunculoso, previamente dialysado e diluido a 1/2, e mais 40 cc. de agua distillada.

O conteúdo de cada frasco foi, então, ajustado a pH variaveis; após 48 horas de permanencia na geladeira, foram os precipitados separados por centrifugação e verificou-se novamente o pH do sobrenadante. Obtiveram-se, desse modo, quatro fracções de globulinas insoluveis, correspondentes aos pH 6,7; 7,0; 7,4 e 7,7.

Esses sedimentos são redissolvidos em agua physiologica, de tal maneira que a concentração de globulinas corresponda a 1,5 vezes a do sôro primitivo.

Essas quatro soluções de globulinas são designadas a seguir pelos symbolos GP 77, GP 74, GP 70 e GP 67.

A dosagem do azoto total nas varias fracções, feitas pelo methodo do micro-KJELDAHL modificado por PREGL, deu os seguintes valores de proteina (em mg. por cc.): GP 77 — 14,97; GP 74 — 15,62; GP 70 — 23,75; GP 67 — 8,53.

Com cada uma dessas soluções foram feitas dosagens das quantidades de azoto nos precipitados obtidos após addição de quantidades variaveis do polysaccharideo especifico, de accordo com o methodo usado por HEIDELBERGER e collaboradores, para dosagem quantitativa das precipitinas.

A dosagem do azoto foi feita não directamente no precipitado porém no sobrenadante, dado que o sedimento obtido na precipitação do sôro carbunculoso pelo polysaccharideo especifico não forma, como o anticorpo pneumococcico, um disco de consistencia firme, capaz de poder ser transferido quantitativamente para o balão onde se pratica a dosagem.

A tabella 2 resume os dados analyticos obtidos com as quatro fracções de globulinas especificas.

TABELLA 2

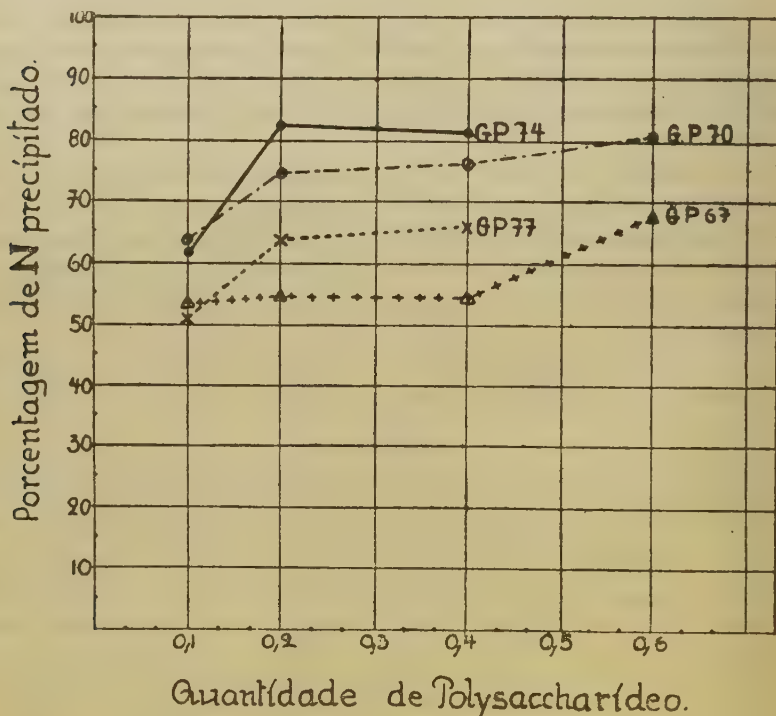
Dados analyticos das quantidades de azoto contidas nas soluções de globulinas e nos precipitados obtidos pela addicção de quantidades variaveis de polysaccharideo

Fracção empregada	Quantidade de polysacc.	NITROGENIO TOTAL			Proteina no precipt.	$\frac{N\ ppt.}{N\ branc.} \times 100$
		no branco	no sobrenad.	no ppt. por diff.		
G P 77	0,4	2,39	0,77	1,62	10,12	67,7
G P 77	0,2	2,39	0,84	1,55	9,72	64,8
G P 77	0,1	2,39	1,16	1,23	7,70	51,8
G P 74	0,4	2,50	0,47	2,03	12,65	81,2
G P 74	0,2	2,50	0,42	2,08	13,00	83,2
G P 74	0,1	2,50	0,94	1,56	9,75	62,4
G P 70	0,6	3,80	0,75	3,05	19,03	80,3
G P 70	0,4	3,80	0,77	3,03	18,94	77,0
G P 70	0,2	3,80	1,23	2,87	16,06	75,5
G P 70	0,1	3,80	1,36	2,44	15,20	64,2
G P 67	0,6	1,36	0,43	0,93	5,81	68,2
G P 67	0,4	1,36	0,60	0,76	4,78	55,8
G P 67	0,2	1,36	0,60	0,76	4,78	55,8
G P 67	0,1	1,26	0,64	0,72	4,50	53,0

Os numeros que figuram na tabella referem-se a 1 cc. da fracção indicada. Assim, o teor de nitrogenio do branco representa a quantidade em mgs. contida em 1 cc. da solução de globulinas. A ultima columna representa a porcentagem de nitrogenio precipitado.

A inspecção da tabella 2 e das curvas representadas no graphico 1 mostra nitidamente que os pH 7,4 e 7,0 são os que melhor convêm á concentração do sôro carbunculoso, pois é nessas condições que se verifica o melhor rendimento em globulina especifica, isto é, cerca de 80 % das globulinas totaes.

Afastando-se deste pH, quer para o lado acido (6,7), quer para o lado mais alcalino (7,7), o teor de immune-globulinas decresce bruscamente para cerca de 67 %.



Graphico 1

Assim, pois, o pH optimo para concentração do sôro carbunculoso, isto é, o que fornece uma solução de globulina mais rica em globulina especifica, coincide com o pH em que se verifica a precipitação mesma das globulinas totaes. Este ponto optimo pode tambem ser determinado simplesmente pela pesquisa de precipitinas no sobrenadante, por meio do polysaccharideo especifico; porém o methodo quantitativo de HEIDELBERGER permitte avaliar os resultados com maior exactidão.

Applicação do methodo de Banzhaf-Klein á concentração do sôro carbunculoso

O methodo comprehende as etapas seguintes:

1) *Dialyse do sôro.* 100 cc. de sôro anticarbunculoso phenicado a 0,5 % foram introduzidos num cartucho para dialyse SCHLEICHER & SCHUELL e dialysados contra agua corrente durante 5 dias.

A dialyse foi feita na temperatura ambiente; para evitar contaminação do sôro addicionou-se diariamente um pouco de toluol.

No fim de cinco dias foi o volume completado a 200 cc. com agua distillada, aproveitando os residuos de precipitado retidos no cartucho dialysador e addicionou-se 1,6 gms. de NaCl para condicionar a dissolução das globulinas.

2) *Precipitação acida.* A solução de globulinas foi, então, addicionada de HCl concentrado até ajustar o pH a 5,1, deixada durante 48 horas na geladeira e, então, filtrada atravez dum disco Seitz clarificador.

3) *Determinação do pH optimo para a precipitação do anticorpo carbunculoso.* A solução filtrada foi neutralizada ao tornasol mediante addição de NaOH 1,6 N. Porções de 2 cc. addicionadas de 8 cc. de agua distillada, foram levadas a pH differentes, entre 6,6 e 7,8, separados os precipitados por centrifugação, após permanencia de 24 horas na geladeira e examinados os sobrenadantes em relação ao pH e á presença de precipitinas, por meio do polysaccharideo especifico.

4) *Precipitação das globulinas especificas.* Ao total da solução filtrada addicionaram-se 4 volumes de agua distillada e ajustou-se o pH ao ponto indicado pelos tests preliminares acima referidos. Em geral, este pH estava comprehendido entre 7,2 e 7,6.

5) *Solução das globulinas especificas.* O precipitado separado por centrifugação era redissolvido em um volume arbitrario de agua physiologica, de accordo com a concentração desejada. Diluindo-se, por exemplo, em 66 cc. de agua physiologica obtinha-se uma solução que continha uma vez e meia mais precipitinas em uma quantidade cerca de 3 vezes menor de proteinas.

CONCLUSÕES

I) O methodo de BANZHAF-KLEIN, para refinação do sôro antipneumococcico, pode ser adaptado á purificação do sôro anticarbunculoso (poder precipitante contra o polysaccharideo especifico).

II) Na determinação do pH optimo para a precipitação das globulinas especificas do sôro anticarbunculoso, a pesquisa de precipi-

tinas no liquido sobrenadante e a dosagem de nitrogenio nas soluções de anticorpo e nos precipitados obtidos pelo polysaccharideo (curva de HEIDELBERGER) dão indicações concordantes.

ABSTRACT

BANZHAF-KLEIN'S *modification of* FELTON'S *method for the concentration of pneumococcus serum may be adapted for the purification of anthrax serum.*

In order to determining the optimum pH for the precipitation of immune-globulins from anthrax serum, the test with the specific polysaccharide for the verification of precipitins may be employed.

However, the quantitative method devised by HEIDELBERGER *and coworkers for the dosage of precipitins is to be preferred on account of its greater accuracy.*

By means of this method one verifies that the optimum pH for the precipitation of total globulins is identical with that in which the precipitate is richer in globulins specifically precipitable by the polysaccharide.

BIBLIOGRAPHIA

1 — HEIDELBERGER, M. & KENDALL, F. E. — 1934 — A quantitative Study of the Precipitin Reaction between Type III Pneumococcus Polysaccharide and Purified Homologous Antibody. *Journ. exp. med.* 50, 809-823.

2 — KLEIN, A. J., GREENWALD, C. K. & FALK, G, — 1934 — The Refining of Antiserums. *Journ. Lab. and Clin. Med.*, 19, 1324-1332.

3 — MODERN, F. & WERNICKE, R. — 1929 — Purificacion del suero anticarbunculoso. *Rev. de la Soc. argentina de Biologia,* 5, 221-232.

4 — SORDELLI, A., BELTRAMI, P., HARISPE, C. & FRANCESCHI, C. — 1928 — Las precipitinas del suero anticarbunculoso. *Rev. del Inst. bact. de Buenos Aires,* 5, 331-351.

5 — SORDELLI, A., BELTRAMI. P., HARISPE, C. & FRANCESCHI, C. — 1928 — Las propriedades del suero anticarbunculoso. Los anticuerpos protectores. *Rev. del Inst. bact. de Buenos Aires,* 5, 352-367.

6 — TOMCSIK, J. & SZONGOFF, H. — 1932 — Ueber die spezifischen Polysaccharide der Milzbrandbazillen. *Zeitschr. f. Immunitaetsf.*, 76, 214-234.

7 — WERNICKE, R. & MODERN, F. — 1928 — Ensayos de purificacion del suero anticarbunculoso. *Rev. de la Soc. argentina de Biologia,* 4, 782-781.

———o———

Vol. 8 — Art. 10 Dezembro de 1937

PHOTOXYDAÇÃO DO SÔRO POR MEIO DA EOSINA

POR

M. Rocha e Silva

Trabalho do Instituto Biologico de S. Paulo

Grande numero de oxydações são catalysadas pelos corantes fluorescentes irradiados. STRAUB (1904) e JODLBAUER & TAPPEINER (1905) estudaram a oxydação do ionio iodeto em iodo, pela eosina irradiada. NOACK (1920) poz em evidencia uma forte oxydação do chromogenio vegetal sob a acção da eosina irradiada. HARRIS (1926), no decurso de suas experiencias sobre a acção da luz na tomada de O_2 pelo sôro sanguineo, mostrou que, addicionando-se a este ultimo hematoporphyrina, aquelle consumo se accelera de maneira consideravel. Nessa mesma época GAFFRON (1926), com a technica manometrica de WARBURG, fez um estudo detalhado do consumo de oxygenio sob a influencia da luz pelo sôro sanguineo inactivado, sensibilizado com diversos corantes fluorescentes, taes como rose bengala, hematoporphyrina, erythrosina, chlorophylla, etc.

Em 1928, CARTER, com a technica manometrica de BARCROFT, estudou a relação existente entre a estructura chimica de grande numero de compostos organicos e a capacidade de soffrerem a photoxydação em presença de corantes fluorescentes. E, recentemente, MEYER (1933), com a technica de WARBURG, estudou a oxydação, pela eosina e chlorophylla irradiadas, de uma série de compostos organicos de dupla ligação, taes como acido oleico, acido undecennico, alguns polyenos naturaes, ergosterol e a forma enolica do acido pyruvico.

Em 1904 STRAUB procurou explicar a acção lethal, sobre as cellulas animaes e vegetaes, dos corantes fluorescentes irradiados, pela sua capacidade de catalysar oxydações. Segundo STRAUB, sob a acção da luz o corante seria transformado num peroxydo e esse peroxydo seria o responsavel não só pelas acções oxydantes sobre substractos mortos como tambem pelas acções destruidoras exercidas sobre substractos vivos.

Ora, a formação de um peroxydo do corante nunca foi demonstrada. Ao contrario, GAFFRON (1927) mostrou que, dissolvendo-se a chlorophylla numa base organica, a isoamylamina, o O_2 absorvido em seguida á exposição á luz se encontra no systema sob a forma de um peroxydo, o qual de nenhum modo pode ser encarado como um peroxydo da chlorophylla. GAFFRON admitte que esse peroxydo seja um peroxydo da propria amina. A addição de agua ao systema transforma 50 % desse peroxydo em H_2O_2.

Em 1933 BLUM & SPEALMAN estudaram, de maneira exhaustiva, as diversas possibilidades de formação de peroxydo em soluções de fluoresceina e de eosina expostas á luz. Pôde ser excluida então a possibilidade de formação de um peroxydo do corante, porquanto foi possivel separar o peroxydo formado, do resto do corante. Uma série de ensaios quantitativos e qualitativos levaram os autores á convicção de que era o H_2O_2 o peroxydo formado pela irradiação prolongada do corante, na ausencia de um substracto oxydavel.

WOHLGEMUTH & SZORENYI (1933 a), com a technica de WARBURG, descobriram que o acido cyanhydrico reforça o consumo de O_2 pelos tecidos sensibilizados pelo rose bengala ou pela hematoporphyrina, e expostos á luz. Ora, o tecido animal contem a catalase, que é um agente especifico de destruição do H_2O_2.

Admittindo-se que o corante fluorescente catalysa a producção de H_2O_2, a inhibição da catalase pelo HCN impediria a destruição daquelle peroxydo de hydrogenio, que se accumularia no systema, augmentando assim o consumo de O_2 (BLUM, 1935). De uma maneira correlata poderiam explicar-se os resultados obtidos por WOHLGEMUTH & SZORENYI (1933 b) de que o HCN é capaz de augmentar consideravelmente a transformação da hemoglobina em methemoglobina sob a acção da luz e em seguida á sensibilização pelo rose bengala.

O que reforça a importancia dos factos descobertos por WOHLGEMUTH & SZORENYI é o facto verificado por MEYER (1933) de que o HCN nenhuma acção exerce na photoxydação, pelos corantes fluorescentes, de substractos mortos, como acido pyruvico, acido oleico, etc.

Recentemente (1936) demos uma prova directa da participação do H_2O_2 na oxydação do KI pela eosina irradiada. A catalase foi então capaz de inhibir até cerca de 85 % o poder de oxydação do systema eosina-luz, sobre o iodeto de potassio.

Na série de experiencias descriptas em seguida, procuramos não só estender mais longe as pesquizas de HARRIS e GAFFRON sobre a photoxydação do sôro sensibilizado pela eosina, como tambem trazer um supporte experimental á idéa de que nos sêres vivos existe um agente de protecção, de natureza enzymatica, contra o poder oxydante da eosina irradiada.

METHODO E MATERIAL

Todas as experiencias descriptas abaixo foram feitas de maneira uniforme. O consumo de O_2 foi medido em mm^3 num manometro differencial de BARCROFT, cujas cubas eram mergulhadas na agua contida em um recipiente sufficientemente amplo onde estava mergulhada tambem uma lampada de filamento, de 100 watts, Philips, á distancia

de 10 cms. das cubas. Cada uma das cubas recebia 2 cc. de sôro de cavallo e o volume completado para 5 cc. numa das cubas (A) com uma solução de eosina GRÜBLER e na outra (B) com 3 cc. de agua distillada.

Pela propria disposição que acabamos de descrever, excluimos o erro de um consumo de O_2 pelo sôro não sensibilizado. A leitura do desnivellamento do manometro dava-nos immediatamente, multiplicada pela constante do apparelho, o consumo de O_2 num tempo determinado. Um pequeno rectangulo de papel de filtro, embebido em uma solução de NaOH a 5 % e mantido no collo do manometro, garantia a absorpção do CO_2 formado durante a photoxydação.

A inactivação do sôro era obtida pelo aquecimento a 60° em um thermostato, durante o tempo sufficiente para não produzir nenhum desprendimento gazoso depois da addicção de 1/2 cc. de agua oxygenada do commercio. Assim, quando se disser «sôro inactivo», subentende-se sôro desprovido de catalase. Certamente aquelle sôro aquecido a 60° perdia outros productos de natureza enzymatica, mas observámos que o sôro só se comportava como inactivo em seguida á destruição completa de todo o poder de destruir o H_2O_2. Muitas vezes, só depois de um aquecimento prolongado, 45 minutos a 60°, era possivel obter-se um sôro completamente livre de catalase, e só então se comportava como um sôro inactivo.

O extracto de catalase empregado em algumas experiencias descriptas acima foi preparado pelo methodo descripto por ZEILE (1931): precipitação das proteinas de um extracto de figado de vitella pelo alcool e chloroformio, adsorpção do principio activo com phosphato tricalcico e eluição em uma solução a 1 % de phosphato disodico. Em algumas das experiencias empregou-se apenas um extracto de figado 66 % agua e 33 % alcool, extremamente activo em catalase e do qual apenas uma gotta era sufficiente para restabelecer a actividade normal de 2 cc. de sôro previamente inactivado pelo calor.

O sôro de cavallo designado como recente, era obtido de uma sangria feita immediatamente antes da experiencia ou no maximo 48 horas antes. Apresentava sempre uma quantidade de catalase muito forte.

O sôro «antigo» de cavallo era o sôro designado no Instituto como sôro normal e que pertencia a partidas ás vezes de 3 a 4 mezes. Esse sôro antigo em regra se apresentava inactivo (sem catalase) ou então era dotado de fraca actividade e um aquecimento de poucos minutos, a 60°, era capaz de destruil-a completamente.

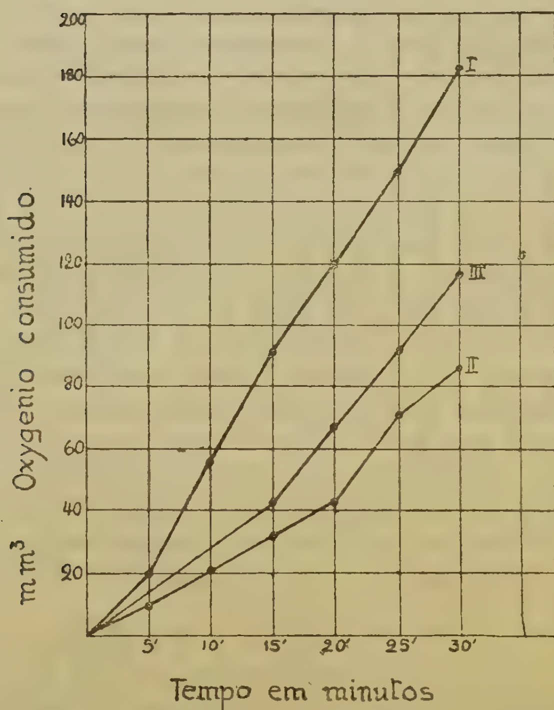
RESULTADOS

I. *Influencia da concentração da eosina.* Nas experiencias seguintes foram empregados, um sôro antigo, praticamente inactivado, e differentes concentrações do corante. Foram preparadas 3 soluções

TABELLA 1

Effeito da concentração da eosina sobre o consumo de oxygenio pelo sôro inactivo.

Tempo de illumin.	EXP. I Solução eosina a 0,02 %	EXP. II Solução eosina a 0,002 %	EXP. III Solução eosina a 0,01 %
5′	21,30	10,65	—
10′	56,80	21,30	—
15′	92,30	31,95	42,60
20′	120,70	42,60	67,45
25′	149,10	71,00	92,30
30′	184,60	85,20	117,15



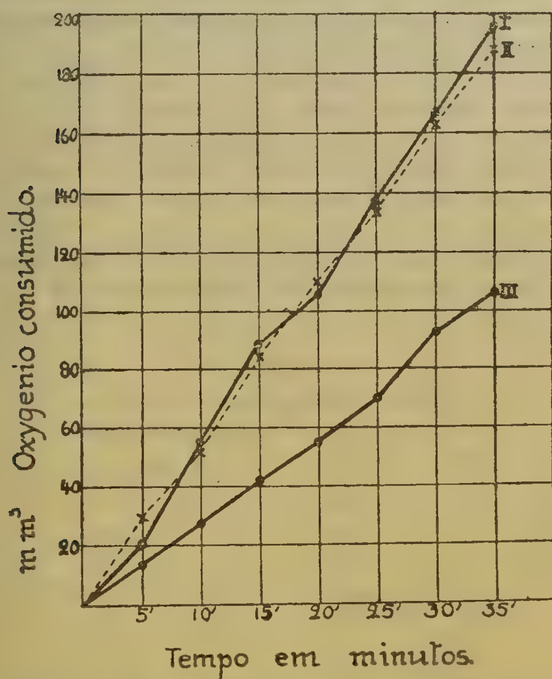
Graphico 1 — Effeito da concentração de eosina sobre o consumo de oxygenio pelo sôro inactivo. I. 0,02 % de eosina. II. 0,002 % de eosina. III. 0,01 % de eosina.

de eosina 0,1, 0,01 e 0,05 %. A cuba da experiencia (cuba A) continha 2 cc. de sôro inactivado + 1 cc. da solução de eosina + 2 cc. de agua distillada. A cuba B (controle) continha 2 cc. do mesmo sôro + 3 cc. de agua distillada. Os resultados são dados em mm^3 de O_2.

TABELLA 2

Influencia da inactivação do sôro.

Tempo de illuminação	EXP. I Sôro antigo inactivo	EXP. II Sôro fresco inactivado	EXP. III Sôro fresco activo
5′	21,30	28,40	14,20
10′	56,80	53,25	28,40
15′	88,75	85,20	42,60
20′	106,50	110,95	56,80
25′	138,47	134,90	70,00
30′	166.85	163,30	92,30
35′	198,80	188,15	106,50



Graphico 2 — Influencia da inactivação do sôro: I - Sôro antigo inactivo; II - Sôro fresco inactivado; III - Sôro fresco activo.

A solução de eosina que deu resultados mais uniformes, o que póde ser visto no graphico 1, foi a solução a 0,1 %, o que equivale a uma concentração de eosina, dentro da cuba, de 0,02 % de corante. Essa concentração de eosina foi a usada nas experiencias subsequentes.

II. *Influencia da inactivação do sôro.* Resumimos (graphico 2 e tabella 2) tres experiencias feitas respectivamente com um sôro antigo, praticamente inactivo, um sôro fresco inactivado a 60° durante tempo sufficiente e o mesmo sôro fresco activo. Como se vê, nenhuma differença apreciavel foi observada entre um sôro inactivado pelo calor e um sôro antigo inactivo, o que exclue a possibilidade de se explicar por uma acção do calor, modificando de qualquer maneira os constituintes do sôro, a grande differença de capacidade de oxydação entre um sôro fresco e um sôro desprovido das suas propriedades enzymaticas, pelo aquecimento a 60.°.

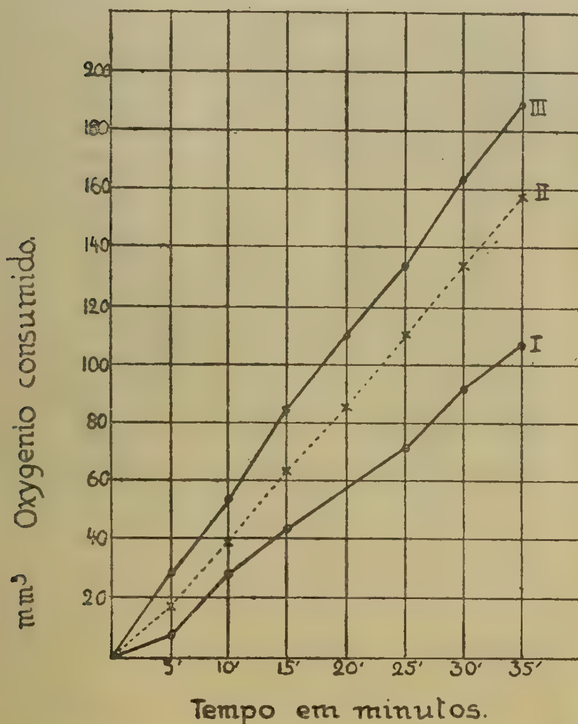
III. *Effeito da inactivação parcial do sôro.* A inactivação parcial do sôro, durante um tempo insufficiente, 15 minutos a 60°, colloca-o a meio caminho do sôro completamente activo para o sôro totalmente inactivado. Apresentamos em parallelo aqui 3 experiencias realizadas respectivamente com um sôro fresco activo e o mesmo sôro parcialmente e totalmente inactivado. As condições são as mesmas das experiencias anteriores (tabella 3 e graphico 3).

Observamos ainda que o consumo de O_2 pelo sôro bastante activo não parecia guardar nenhuma relação com a sua actividade. Attingido um certo limite de actividade, não era possivel diminuir mais, o consumo de O_2. Sôros activos muito recentes e outros, menos recentes, os primeiros com uma actividade visivelmente superior á dos outros, consumiam praticamente a mesma quantidade de O_2. Este facto é um indicio da natureza enzymatica do principio protector.

TABELLA 3

Effeito da inactivação parcial do sôro.

Tempo de illumin.	EXP. I Sôro fresco	EXP. II Sôro fresco 15' a 60°	EXP. III Sôro inactivado totalmente
5'	7,10	17,75	28,40
10'	28,40	39,03	53,25
15'	42,60	63,90	85,20
20'	—	85,20	110,95
25'	71,00	110,05	134,90
30'	92,30	134,90	163,30
35'	106,50	159,75	188,15



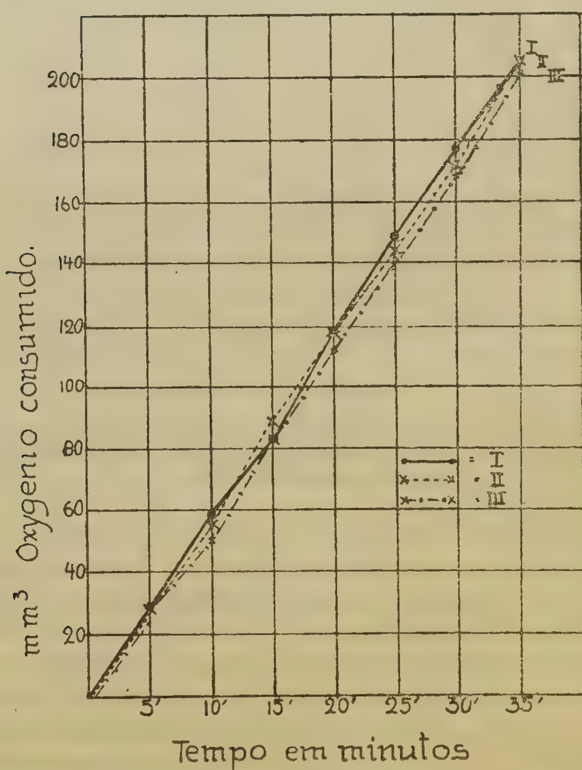
Graphico 3 — Effeito da inactivação parcial do sôro: I - Sôro fresco activo; II - Sôro fresco mantido 15' a 60°; III - Sôro inactivado totalmente.

IV. *Effeito da addição de HCN a um sôro inactivado.* A solução de KCN m/20 era ajustada a um pH 7,6 pela addicção de HCl concentrado. Foi empregado um sôro cuidadosamente inactivado a 60° durante um tempo bastante longo. A cuba A continha 2 cc. do sôro + 1 cc. da sol. de eosina a 0,1 % + 2 cc. da solução m/20 de HCN. A cuba B continha 2 cc. do mesmo sôro + 1 cc. de agua distillada + 2 cc. da mesma solução de HCN. Na experiencia sem addicção da solução de HCN, esta ultima era substituida por uma mesma quantidade de agua distillada. De accordo com as indicações de VAN HEYMINGEN (1935), empregamos, no collo do manometro, em vez de papel embebido em solução de soda caustica, um rectangulo identico embebido em solução de KCN não neutralizada, nas experiencias em que era ensaiada a acção do HCN. Como se vê na tabella 4 e no graphico 4, a photoxydação do sôro inactivado não é influenciada pelo HCN m/50.

TABELLA 4

Effeito da addicção de HCN a um sôro inactivado.

Tempo de illumin.	EXP. I Sôro inact. + HCN m/50	EXP. II Sôro inact. + H_2O dist.	EXP. III Sôro inact. + HCN m/50
5′	29,60	29,60	29,60
10′	59,20	56,24	53,28
15′	82,88	88,80	82,88
20′	118,40	118,40	112,48
25′	148,00	145,04	142,08
30′	177,60	171,68	168,72
35′	204,24	204,24	201,28



Graphico 4 — Effeito da addicção de HCN a um sôro inactivado: I - Sôro inactivado + HCN $^m/_{50}$; II - Sôro inactivado + H_2O distillada; III - Sôro inactivado + HCN $^m/_{50}$.

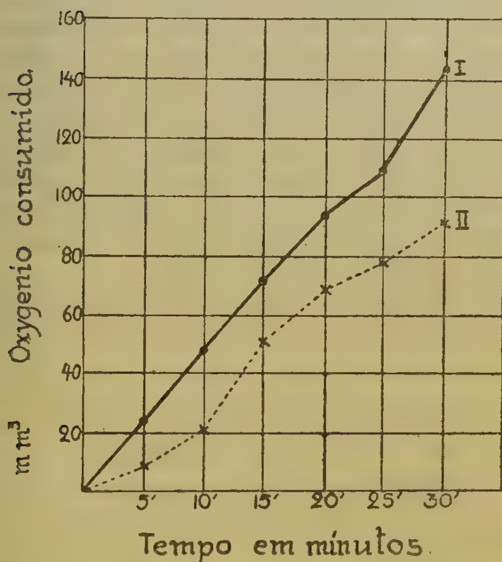
V. *Influencia do HCN m/50 na photoxydação do sôro parcialmente activo.* A solução de HCN era preparada de maneira identica á das experiencias anteriores e um ensaio previo mostrava que era

ella sem effeito na photoxydação do sôro inactivo. O sôro parcialmente activo era preparado addicionando-se 1/3 de sôro activo ao sôro totalmente inactivado a 60°. Pela tabella 5 e graphico 5 abaixo, pode-se vêr a acção nitida do acido cyanhydrico na photoxydação do sôro parcialmente activo. Em alguns casos o HCN foi capaz de elevar o poder oxydante da eosina de mais de 50 % do seu valor, sem a addicção de HCN.

TABELLA 5

Influencia da addicção de HCN a um sôro parcialmente activo.

Tempo de illumin.	EXP. I Sôro parc activo + HCN m/50	EXP. II Mesmo sôro + H_2O dist.
5′	23,68	8,88
10′	47,36	20,72
15′	71,04	50,32
20′	94,72	68,08
25′	118,40	79,92
30′	142,08	91,76



Graphico 5 — Influencia da addicção de HCN a um sôro parcialmente activo: I - Sôro parcialmente activo addiccionado de HCN $^{m}/_{50}$; II - Mesmo sôro addiccionado de H_2O distillada.

Na tabella 6 estão resumidas 7 experiencias similares ás descriptas detalhadamente, acima. Os sôros empregados eram tornados parcialmente activos pela addicção de quantidades variaveis de sôro activo ou então eram inactivados parcialmente á temperatura de 60° durante tempo insufficiente.

Resumo de 7 experiencias

TABELLA 6

Influencia da addicção de HCN m/50 a sôros parcialmente activos.

Data da exper.	Tempo de illumin.	Add. de HCN m/50	Sem add. de HCN.	Aug. % do poder de oxyd.
24/XII/36	15′	88,80	65,12	36,3
»	30′	168,72	148,00	14
8/1/37	25′	118,40	112,48	5,3
9/1/37	30′	171,68	148,00	16
14/1/37	10′	53,28	44,40	20
18/1/37	30′	142,08	91,76	55
22/1/37	20′	94,72	56,24	68

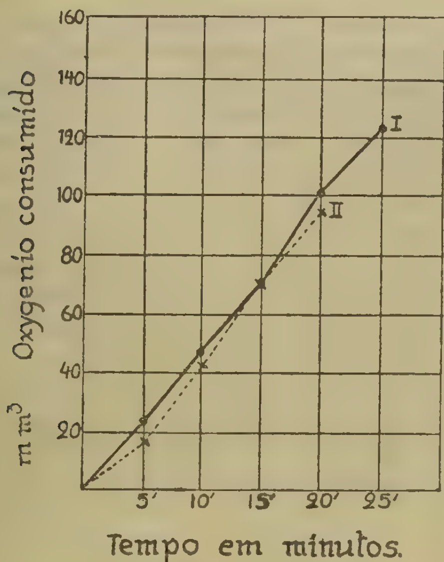
VI. *Experiencias com extractos activos de catalase.* Não nos foi possivel reduzir o poder oxydante da eosina irradiada sobre um sôro previamente inactivado, pela addicção de um extracto activo de catalase. A tabella 7 e o graphico 6 resumem uma experiencia typica. Em cada uma das cubas da experiencia era addicionada 1 gotta de um extracto 33 % alcool e 66 % agua, extremamente activo em catalase. As experiencias repetidas de muitas maneiras, com soluções de catalase purificados pelo methodo de ZEILE, deram sempre um resultado uniforme: nenhuma acção apreciavel do extracto de catalase na photoxydação do sôro pela eosina, foi observada.

VII. *Addicção de determinadas quantidades de sôro activo ao sôro inactivado.* Mostramos anteriormente que o principio que reduz

TABELLA 7

Influencia da addicção de catalase sobre a photoxydação do sôro pela eosina.

Tempo de illumin.	EXP. I Sem catalase.	EXP. II Add. de 1 gotta de catalase.
5′	23,68	17,76
10′	47,36	41,44
15′	71,04	71,04
20′	100,64	94,72
25′	124,32	—



Graphico 6 — Influencia da addição de um extracto rico em catalase: I - Sem catalase; II - Addiccionado de catalase.

o poder oxydante da eosina, no sôro activo, é thermolabial e que há indicios de que tenha natureza enzymatica. O que sobretudo observamos nas nossas experiencias é que sôros activos de varias procedencias consumiam quantidades similares de O_2. Desde que a sua actividade attingisse um certo gráo, não era possivel reduzir mais o consumo de oxygenio. Sôro recentissimo, empregado hora e meia depois da sangria, consumia approximadamente o mesmo que um sôro de 1 a 2 semanas e muitas vezes de 1 mez. Aquelle consumo minimo que observamos nas experiencias da secção II, não pôde ser reduzido e era o consumo habitual de sôros recentissimos e de sôros menos recentes onde a actividade catalatica se bem que mantendo-se muito elevada, era entretanto visivelmente mais attenuada que nos primeiros.

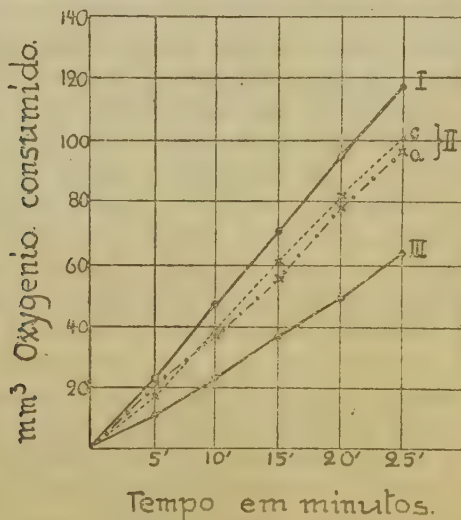
As experiencias referidas abaixo foram feitas com o objectivo de mostrar se uma incapacidade qualquer de diffusão para o sôro inactivado, do principio activo, seria capaz de explicar os resultados negativos das experiencias em que se experimentou a acção de um extracto activo de catalase, tendo-se sempre em vista os resultados referidos na litteratura, que tornam bastante seductora a supposição de que seja a catalase o agente de protecção de tecidos vivos, contra o poder de photoxydação dos corantes fluorescentes.

Reunimos na mesma cuba determinadas quantidades de sôro recentissimo e de um sôro cuidadosamente inactivado pelo calor. Assim, por exemplo, na exp. II foi experimentada uma mistura contendo 2/3 de sôro inactivado e 1/3 de sôro activo. Os valores calculados são a média ponderal dos valores obtidos com os sôros inactivado (exp. I) e activo (exp. III) tomados isoladamente. Os valores experimentaes concordariam com os valores calculados, desde que cada porção da mistura consumisse O_2 de maneira independente. Como se vê na tabella 8 e no graphico 7, cada porção consome o oxygenio como se a outra não estivesse presente, de onde se poderia concluir que o principio activo certamente em excesso no sôro recentissimo é incapaz de diffundir do sôro activo para o sôro inactivado.

TABELLA 8

Photoxydação de misturas de sôro activo e sôro inactivado, pela eosina.

Tempo de illumin.	EXP. I Sôro inactivado.	EXP. II		EXP. III Sôro activo recentissimo.
		Val. achados	Val. calcul.	
5'	23,68	20,72	19,73	11,84
10'	47,36	38,48	39,46	23,68
15'	71,04	56,24	60,18	38,48
20'	97,68	79,92	81,89	50,32
25'	118,40	97,68	100,64	65,12



Graphico 7 — Consumo de oxygenio de uma mistura de sôro activo (III) e sôro inactivado (I): Em IIa, consumo de uma mistura $^2/_3$ de sôro inactivado + $^1/_3$ de sôro activo. Em IIc, valores calculados como se o consumo da mistura fosse a resultante dos consumos dos componentes separados.

DISCUSSÃO

O sôro fresco de cavallo possue um principio protector contra o effeito oxydante da eosina irradiada. Esse principio protector thermolabil, é tornado parcialmente inactivo pela addicção de HCN m/50, o que suggere a presença de um nucleo de ferro na estructura do referido principio.

De accordo com os dados conhecidos da litteratura, impunha-se a idéa de que fosse a catalase esse principio activo que é capaz de reduzir de maneira sensivel o poder oxydante daquelle corante fluorescente irradiado. Em seu favor estaria ainda o facto de que o sôro só se comportava como um sôro inactivo, isto é, consumia um maximo de O_2, quando, em seguida a um aquecimento sufficiente, nenhum poder de destruição podia ser observado em relação á agua oxygenada.

Como vimos, as experiencias de WOHLGEMUTH & SZORENYI (1933), que demonstraram que tecidos sensibilizados pelo rose bengala e hematoporphyrina consumiam uma quantidade maior de O_2 quando addicionados de HCN, bem como que a transformação de hemoglobina em methemoglobina pelo rose bengala e exposição á luz é incrementada notavelmente pela addicção de HCN, levavam á conclusão da presença nesses tecidos, de um agente de protecção capaz de ser envenenado pelo HCN e que, de accordo com uma hypothese muitas vezes formulada BLUM & MC BRIDE, 1931; BIER & ROCHA e SILVA, 1934; BLUM, 1935), seria a catalase. Nessa mesma ordem de factos mostramos (1936) que um extracto activo de catalase é capaz de reduzir de maneira consideravel o poder oxydante da eosina sobre o KI, o que exigia a supposição de que o peroxydo de hydrogenio fosse o intermediario mais importante naquella oxydação. Além disso, tinha sido mostrado por BLUM & SPEALMAN (1933) que na ausencia de qualquer substracto oxydavel, a irradiação prolongada do corante determina a formação de pequenas quantidades de agua oxygenada.

Para conciliar os resultados negativos que obtivemos pela addicção de um extracto activo de catalase ao sôro que devia soffrer a photoxydação pela eosina, com os resultados referidos acima e com a hypothese de que o agente de protecção fosse a catalase, era preciso admittir uma pecularіedade qualquer do substracto utilizado: *as proteinas sericas*. Foi demonstrado por METZNER (1924), em paramecios, sensibilizados pela eosina, que apenas age como sensibilizador o corante que contrahiu ligação com as proteinas cellulares. De maneira correlata BUSCK (1908) tinha mostrado que uma solução de eosina no sôro, dialysa uma quantidade de corante de 40 a 300 vezes menor do que a que permanece na solução de proteina. E ainda, em 1926, GAFFRON mostrou que, fazendo-se passar por um ultrafiltro de BECHHOLD uma

certa quantidade de sôro, contendo determinada quantidade de corante fluorescente, o ultrafiltrado absorve uma quantidade de O_2, em seguida á exposição á luz, pouco maior que 10 % da quantidade absorvida nas mesmas condições pela proteina que fixou o corante e que foi retida pelo ultrafiltro.

Talvez essa ligação intima entre o corante e a proteina, permittindo uma producção por assim dizer intramicellar do agente oxydante, tornasse sem effeito a addicção do extracto de catalase. Nas experiencias em que procuramos determinar o effeito oxydante da eosina irradiada, sobre uma mistura em proporções determinadas de um sôro extremamente activo, possuindo provavelmente em excesso o supposto agente protector, e um sôro completamente inactivado, mostramos que cada fracção da mistura consome oxygenio independentemente da outra, o que revela que o principio activo é incapaz de diffundir para o sôro inactivado.

Ora, como é sabido, a catalase é uma substancia complexa formada pela reunião de uma hematina a uma proteina especifica (ZEILE & HELLSTRÖM, (1930) e cujo peso molecular muito elevado é da ordem de grandeza do das particulas colloidaes (STERN, 1933). A catalase é portanto incapaz de dialysar. Por outro lado, a micella de uma substancia proteica, poderia ser comparada a um ultrafiltro (LOEB, 1921). Assim no caso da addicção externa de catalase ao sôro inactivado, a impossibilidade de diffusão da enzyma para a intimidade da massa de proteinas sericas, explicaria talvez a sua incapacidade de agir como agente protector contra o poder de oxydação dos corantes fluorescentes irradiados.

Isso suggere que, se se pretender substanciar a hypothese da catalase como agente protector, é indispensavel escolher-se um substracto oxydavel não albuminoso. Procuramos experimentar o acido pyruvico em meio fortemente alcalino, o qual, de accordo com os resultados de MEYER (1933), soffre energica acção oxydante da eosina irradiada. Mas aqui a necessidade de addicionar forte dose de NaOH, o que inactiva a catalase, tornou impossivel o proseguimento das experiencias.

Agradecemos a P. E. GALVÃO o auxilio precioso que nos prestou durante toda a execução deste trabalho, na secção de Physiologia do Instituto.

ABSTRACT

I. This paper deals with the consumption of oxygen by the serum of the horse to which a certain quantity of eosine had been previously added and exposed to light.

II. The oxygen consumption was measured by means of BARCROFT'S *differential manometer, one of the vessels of which con-*

taining the serum with the dye and the other only the serum. The irradiation was made in a large recipient full of water, where the vessels and also a Philip's lamp. of 100 watts at a distance of 10 cms. from them, were immerged.

III. The consumption of oxygen by an active horse serum in the presence of eosine and light is almost one half of that consumed by a serum inactivated at 60° or by a naturally inactive (old) one, in presence of an equal concentration of dye.

IV. The hypothesis is formulated that the fresh serum contains a thermolabile, protective substance against the oxidation produced by the eosine when exposed to light. According to an hypothesis frequently stated, that hydrogen peroxide is an intermediate substance in oxidation, the protecting principle would very probably be the catalase.

V. The HCN m/50 has no influence on the photo-oxidation of the inactive serums or those previously inactivated.

VI. The photo-oxidation of the partially active serums, however, is strongly influenced by the HCN m/50. In some of the experiments this concentration of HCN increased by more than 50 % the oxidating power of the irradiated eosine. This suggests the presence of an iron nucleus in the protecting agent, and strengthens the hypothesis that the protecting agent is the catalase.

VII. It was not possible to reduce the oxidating power of the irradiated eosine by previously adding an active extract of catalase to the inactivated serum.

VIII. In experiments made with mixtures of a very recent serum and an inactivated one, it was verified that each fraction consumes O_2 as if the other were not present. It is concluded that the active substance in great excess in the very fresh serum is not able to diffuse itself into the inactivated fraction.

IX. The combination of the dye with the serum protein suggests an explanation for that unspected behavior of an extract rich in catalase. If we admit that the intermediate product of the oxidation be produced in the interior of the micellae it would render without effect the further addition of the indiffusible protecting agent. Thus we could retain the hypothesis that hydrogen peroxide is the intermediate product and the catalase the protecting agent. This would result in a great economy of hypotheses in the interpretation of the results referred to in the literature.

BIBLIOGRAPHIA

Bier, O. G. & Rocha e Silva, M. — 1935 — Action du KCN sur l'hemolyse photodynamique. *Comp. rend. Soc. Biol.*, **118**, 911-913.

Blum, H. F. — 1935 — Photosensitization of living systems. *Cold Spring Harbor Sympos. on Quantitative Biology.*, **3**, 318-327.

Blum, H. F. & Mc. Bride, G. C. — 1931 — Studies on photodynamic Action. III. The difference in mechanism between photodynamic hemolysis and hemolysis by non irradiated eosine. *Biol. Bull.*, **61**, 316-323.

Blum, H. F. & Spealman, C. R. — 1933 — Photochemistry of fluorescein dyes. *Journ. of Physic. Chem.*, **37**, 1123-1133.

Blum, H. F. & Spealman, C. R. — 1934 — Nature of the hemolytic agent in previously irradiated solutions of eosine. *Proc. of the Soc. for Exp. Biol. and Med.*, **31**, 1007-1008.

Busck, G. — 1906 — Die photobiologischen Sensibilisatoren und ihre Eiweissverbindungen. *Biochem. Zeitsch.*, **1**, 425-438.

Carter, C. W. — 1928 — The photo-oxidation of certain organic substances in the presence of fluorescent dyes. *The Bioch. Journ.*, **22**, 575-582.

Gaffron, H. — 1926 — Über Photooxydationen mittels fluorescierender Farbstoffe. *Biochem. Zeitsch.*, **279**, 157.

Gaffron, H. — 1927 — Ber. der Deutsch. Chem. Gesell., **60**, 2229 (Ref. *in* Ber. über die Gesamt. Phys. u. Exp. Pharm.)

Harris, D. T. — 1926 — Photo-oxidation of plasma. A note on its sensitization *Bioch. Journ.*, **20**, 4, 280-287.

Loeb, J. — 1921-1922 — The origin of the electrical charges of colloidal particles and of living tissues. *Journ. of Gen. Physiol.*, **4**, 351-371.

Meyer, K. — 1933 — On catalytic oxidations. 111. The oxidation of pyruvic acid. *Journ. of Biol. Chem.*, **103**, 39-49.

Meyer, K — 1933 — On catalytic oxidations. IV. Photochemical oxidation of some ethylenic double bonds. *Journ. of Biol. Chem.*, **103**, 597-606.

Meyer, K — 1933 — On catalytic Oxidations. V. The oxidations of ergosterol. *Journ. of Biol. Chem.*, **103**, 607-616.

Metzner, P. — 1924 — Zur Kenntnis der photodynamischen Erscheinung. *Biochem. Zeitschr.*, **148**, 498-517.

Noack, K — 1920 — Untersuchung über lichtkatalytische Vorgänge von physiologischer Bedeutung. *Zeitsch. f. Bot.*, **12**, 273-347.

Rocha e Silva, M. — 1937 — E'tudes sur l'action combinée de l'éosine et de la lumiére. I. Action de la catalase sur l'oxydation du KI par l'éosine irradiée. *Compt. rend. Soc. de Biol.*, **124**, 143-145.

Rocha e Silva, M. — 1937 — E'tudes sur l'action combinée de l'éosine et de la lumiére. II. Action de l'éosine irradiée sur le systeme KI + catalase comme un modéle de l'action photodynamique. *Compt. rend. Soc. Biol.*, **124** 146-147.

Rocha e Silva, M. — 1937 — E'tudes sur l'action combinée de l'éosine et de la lumiére. III. Sur l'action de la catalase dans le phenomène photodynamique. *Compt. rend. Soc. Biol.*, **124**, 148-250.

Stern, K. G. — 1933. Ueber die Teilchengrösse und das Moleculargewicht der Katalase. *Zeitsch. f. Physiol. Chem.*, **217**, 337-248.

Van Heymingen, W. E. — 1935 — The inhibition of respiration by cyanide. *Bioch. Journ.*, **29**, 2036-2039.

Wohlgemuth, J. & Szorenyi, E. — 1933 — Über die Wirkung des Lichts auf den Chemismus der Zelle. I. Versuche an Gewebsschnitten. *Biochem. Zeitsch.*, **264**, 371-388.

Wohlgemuth, J. & Szorenyi, E. — 1933 — Über die Wirkung des Lichts auf den Chemismus der Zelle. II. Versuche an roten Blutkörperchen. *Biochem. Zeitsch.*, **264**, 389-405.

Zeile, K. — 1931 — Über die aktive Gruppe der Katalase. II. *Zeitsch. f. Physiol. Chem.*, **195**, 39-48.

---o---

Vol. 8 — Art. 11 Dezembro de 1937

SOBRE O RECONHECIMENTO DE PORTADORES NA CHOLERA AVIARIA E A PERSISTENCIA DA "PASTEURELLA AVICIDA" NESSES ANIMAES

POR

P. Nobrega e J. Reis

Trabalho do Instituto Biologico de S. Paulo

Em relação á sua sensibilidade á cholera espontanea ou experimental, as aves podem ser separadas em tres grupos (6): o primeiro, o mais numeroso, comprehende os animaes de extrema sensibilidade e que morrem rapidamente em consequencia duma infecção aguda generalizada; o segundo é constituido por individuos absolutamente resistentes á infecção; o terceiro comprehende aves de resistencia relativa, isto é, que expostas á cholera não morrem, mas tornam-se portadoras ou apresentam formas localizadas da doença. A ave portadora é o principal factor de apparecimento da cholera em granjas até então indemnes e é responsavel pelos surtos periodicos que se observam em lotes já anteriormente infectados (2, 3, 6, 8, 9, 10); o numero de mortes por cholera, principalmente de natureza enzootica, é proporcional ao numero de portadores, cuja eliminação concorre em grande parte para impedir a disseminação da doença (8,9). A cholera pode propagar-se rapidamente mesmo entre aves de granjas submettidas a condições optimas de hygiene, ao contrario do que admittem alguns autores (1,7), segundo os quaes a doença sómente se manifesta em animaes de resistencia diminuida em consequencia de condições desfavoraveis, taes como resfriamento, má alimentação, parasitismo etc. Estes factores têm importancia relativa, pois o emprego exclusivo de medidas sanitarias não é sufficiente para eliminar a doença dum lote infectado (4). A medida prophylactica principal consiste na eliminação das portadoras, representadas já por aquellas aves que, apparentando saúde normal, conservam muitas vezes indefinidamente a *P. avicida* na mucosidade da bocca e nariz, já por animaes com formas localizadas (corysa, edema da barbela).

Reconhecimento das aves portadoras

A verificação da existencia ou não do microbio da cholera no muco buccal pode ser feita de dois modos, a saber: semeadura directa em placas de agar sangue (5,8) e inoculação do material em animaes sensiveis, de laboratorio (3). No primeiro caso, retira-se o muco por

meio dum chumaço de algodão esteril collocado na extremidade dum bastão e espalha-se o material na superficie duma placa de agar sangue recentemente preparado (5,8); após 24 hs. de incubação, observa-se cuidadosamente a placa e toda a colonia suspeita é examinada quanto ás propriedades fundamentaes da *P. avicida.* Este processo é pouco pratico porque a flora buccal é muito variada e a contaminação é geralmente grande, o que torna o exame das colonias muito trabalhoso, tanto mais quanto numerosas bacterias diversas da *P. avicida* podem formar colonias indistinguiveis das desta ultima.

A inoculação em animaes deve ser considerada como o melhor processo, utilizando-se para esse fim, não o coelho, segundo recommendam alguns autores (3), dada a frequencia da pasteurellose nesse animal, mas sim o pombo, cujo emprego apresenta grandes vantagens, não só porque é um animal extremamente sensivel á infecção experimental por qualquer dos typos de *P. avicida,* mas tambem porque só excepcionalmente apresenta a doença espontanea. A technica é simples e consiste em injectar subcutanea ou intramuscularmente no pombo, um pouco de muco da fenda palatina, aspirado por meio de pipeta estirada, e emulsionado em 1 cc. de caldo simples. O material enviado ao laboratorio nessas condições póde ser inoculado immediatamente ou então no dia seguinte, após pernoite na geladeira. Em ambos os casos os resultados são concordes. Nos casos positivos a morte do animal se verifica de 12 hs. a 2-3 dias após a inoculação, isolando-se o germe em cultura pura. Os pombos que não apresentam reacção alguma num periodo de observação de 7 dias, podem ser novamente utilizados para outras inoculações.

O emprego deste methodo tem nos permittido reconhecer facilmente a existencia de aves portadoras em epizootias de cholera; assim em duas granjas infectadas, o exame de 1.700 aves num caso, e de 3.737 noutro, revelou respectivamente 18 e 114 portadoras. Neste ultimo caso tratava-se duma granja de 6.000 aves, entre as quaes se observou uma mortalidade de 2.300 animaes num periodo de 2 mezes. A epizootia cessou completamente com o afastamento das 114 portadoras referidas, não se tendo verificado mais nenhum caso de cholera nestes ultimos 15 mezes.

Reconhecimento de portadores pelo exame sorologico

Contrariamente á opinião de alguns autores, o exame sorologico é falho, o que é de prever, dado o fraco valor antigenico da *P. avicida.*

Num exame feito recentemente em 50 aves seguramente portadoras, somente com o soro de uma gallinha observamos até a diluição

maxima de 1:50, a agglutinação duma amostra de *P. avicida* que era perfeitamente agglutinavel até a diluição 1:5120 por um antisoro preparado em coelho. Os sôros das 49 aves restantes deram resultados completamente negativos.

Persistencia da P. avicida em aves portadoras

A *P. avicida* semeada em placa de agar mais traços de sangue hemolysado pode apresentar tres typos de colonia que differem morphologicamente e têm significação epizootologica (5, 6, 8, 9, 10): a) *typo fluorescente,* associado a formas epizooticas da doença, resistente á precipitação em meios acidos e á sedimentação por centrifugação, de virulencia elevada e de fraca capacidade vegetativa; em condições desfavoraveis transforma-se no typo azul; b) o *typo azul* associado á cholera enzootica, e que resulta duma modificação do typo fluorescente quando este é cultivado em meio improprio como agar sem sangue, caldo simples em presença do antisoro correspondente, etc.; a transformação em sentido inverso não se verifica e por isso o typo azul é considerado permanente; em meio liquido é pouco estavel, sedimenta-se com facilidade pela centrifugação e apresenta uma zona extensa de agglutinação acida (pH 2,4 — 5,4); é de virulencia baixa, mas capaz de sobreviver durante muito tempo nos tecidos do hospedeiro; c) *typo intermediario,* de virulencia e capacidade vegetativa intermediarias ás duas formas precedentes, colonias menos opacas e fluorescentes que o typo fluorescente; é, como o azul, um typo estavel; está relacionado com epizootias severas e apresenta uma zona de agglutinação acida comprehendida entre pH 2,4 e 4,0. O typo azul apresenta ainda grande capacidade de disseminação de hospedeiro para hospedeiro ao passo que os typos epizooticos difficilmente se espalham pelos animaes em contacto com o hospedeiro.

Hughes e Pritchett (6) verificam que o estado portador occorre mais frequentemente com o typo azul, nas chamadas formas enzooticas, e raramente com os typos de colonias epizooticas. Pritchett, Beaudette e Hughes (9) verificam que o typo azul pode sobreviver no outomno em portadores apparentemente sãos e provocar no inverno seguinte uma enzootia entre as aves dum novo lote. Essas observações explicam a repetição periodica de surtos de cholera numa granja anteriormente infectada, mas a explicação se refere exclusivamente á forma enzootica da doença, pois em relação á cholera epizootica, determinado pelos typos fluorescente ou intermediario, os mesmos autores observam que os portadores encontrados entre os sobreviventes são em pequeno numero e conservam o germe no muco nasal durante um praso muito limitado.

Observações feitas por nós em São Paulo demonstram, entretanto, que um dos typos associados á cholera epizootica, isto é, o fluorescente, pode permanecer indefinidamente no muco buccal de gallinhas portadoras, sobreviventes duma epizootia de cholera. As gallinhas que serviram para essa experiencia faziam parte duma criação de 6.000 Leghorns brancas, onde occorrera nos mezes de Abril e Maio de 1936 uma epizootia que determinou a morte de 2.300 aves. O exame das 3.737 aves restantes revelou, pelo processo da inoculação em pombos, a existencia de 114 portadoras (3,05 %), que foram immediatamente afastadas, não se observando mais nestes ultimos 15 mezes nenhum caso de cholera na referida granja.

Das 114 portadoras referidas, 50 foram trazidas para o laboratorio e conservadas, a partir de Maio de 1936, em 5 cercados de 2×4 metros. Do muco buccal dessas gallinhas foram nessa época isoladas amostras de *P. avicida* cuja determinação de typo foi feita de accordo com os criterios estabelecidos por HUGHES (5); a technica usada foi a mesma, com excepção da parte que se refere ao comportamento das amostras em soluções tampões acidas, para cujo estudo nos utilizamos dos tampões de MC ILVAINE, sendo o pH das diversas soluções controlado pelo methodo colorimetrico. Para a verificação de agglutinabilidade empregamos um antisoro preparado em coelhos com uma amostra da nossa collecção (P. 249) typicamente fluorescente. Este antisoro agglutina as amostras do typo azul de nossa collecção nas diluições variaveis de 1:2560 a 1:7290. Os exames feitos em Maio e Outubro de 1936 e Janeiro de 1937 deram o resultado constante da tabella abaixo:

TABELLA 1

Mostrando o comportamento de amostras fluorescentes de *P. avicida* na bocca de gallinhas portadoras, num periodo de 8 mezes

	25-5-36	16-10-36	21-1-37	
Typo fluorescente . .	50	10	9	Uma das portadoras de amostras fluorescente morreu em 23-1-37, isolando-se a amostra do figado e da bocca.
Typo azul	0	18	16	Duas das 18 portadoras de amostras azul qua havia em 16-10-36 acabaram por esterilizar-se.
Negativos	0	22	24	

Pela tabella acima verifica-se que de 50 aves, 10 permaneceram com o typo fluorescente no muco buccal durante largo praso, o que demonstra que em certas condições mesmo as amostras do typo epizootico podem apresentar grande capacidade de sobrevivencia, ao contrario da observação dos autores americanos.

Das 9 gallinhas que em 21-1-37 ainda se mantinham portadoras de amostras *fluorescentes,* uma succumbiu em 11-2-37 e outra em 8-6-37, ambas apresentando o germe no muco buccal e nos orgãos, por occasião da morte; as sete restantes continuaram a ser examinadas regularmente de dois em dois mezes até 20-8-37, data em que se verificou serem todas ainda portadoras do *typo fluorescente.* Quatro dellas, no intervallo entre Outubro de 1936 e Agosto de 1937 foram mantidas em gaiolas individuaes, de 50 $\times$ 40 $\times$ 50 cms. sendo diariamente removidas para gaiolas previamente desinfectadas; nestes animaes, mantidos em condições desfavoraveis a uma reinfecção por contagio, o exame do muco buccal foi praticado cada 10 dias, verificando-se que a amostra permaneceu sempre do *typo fluorescente.* Todas as amostras fluorescentes acima referentes revelaram-se inagglutinaveis por um antisoro preparado com amostra fluorescente typica, e se mantiveram perfeitamente estaveis numa zona de pH 2,0 —5,6 (agglutinação acida negativa).

RESUMO

Os autores confirmam a importancia fundamental da ave portadora na epizootologia da cholera e verificam que a inoculação em pombos deve ser considerada como o melhor processo para a verificação da existencia ou não da *P. avicida* no muco buccal das aves. Verificam ainda que o exame sorologico para o reconhecimento dos portadores é completamente falho. Em relação á persistencia do typo fluorescente de *P. avicida* em portadores, verificam que algumas aves podem manter o germen na bocca indefinidamente, tendo-se prolongado as observações neste sentido por um periodo de 15 mezes. Esse facto é interessante não só porque o typo fluorescente é considerado incapaz de sobreviver nos tecidos do hospedeiro além dum periodo muito limitado, como tambem porque poderá explicar a repetição periodica de surtos de *cholera epizootica* numa granja anteriormente infectada.

ABSTRACT

The Authors emphasize the importance of «healthy carriers» in the epidemiology of fowl-cholera, a very common diesease in the State of São Paulo, Brasil, where it causes heavy losses among poultry. Their findings agree with the ones of Hughes and coworkers on the occurrence of three types of Pasteurella avicida associated with

fowl-cholera, the most important and frequent being the fluorescent type. They further show that this type, which was supposed to disappear very soon from the body, can also survive for a long time (15 months as they report here) in the nasal passages of birds. These «healthy carriers» of the fluorescent type may explain the periodical reappearance of epidemics of fowl-cholera due to the fluorescent type in poultry-farms, a feature very often met with in Brasil.

BIBLIOGRAPHIA

1 — CSONTOS, J. — 1936 — Ueber die Bedingungen des Haftenbleiben einer Geflügelcholerainfektion, *Allat. Lapok,* **1**, 1. Ref. *in Bul. Inst. Past.* 1935, **20**, 1016.

2 — DEBONERA, G. e MATTHARAKIS, E. — 1935 — Sur l'épidemiologie du cholera aviaire en Grèce, *Rec. Méd. Vét. Alfort,* **43**, 508, 193-211.

3 — ES, L. VAN — 1937 -- Fowl cholera, *J. Am. Vet. Med. Ass.,* **43**, 3, 446-452.

4 — FEKETE, L. — 1935 — New views on the aetiology and prophylaxia of fowl cholera, *Allat. Lapok,* **58**, 130-131, Ref. *Vet. Bul.,* 1936, **6**, 491.

5 — HUGHES, TH. P. — 1930 — Tha epidemiology of fowl cholera, *J. Exp. Med.,* **51**, 2, 225-338.

6 — HUGHES, TH. P. e PRITCCHETT, I. W. — 1930 — The epidemiology of fowl cholera, *J. Exp. Med.,* **51**, 2, 239-248.

7 — MANNINGER, R. — 1934 — Considérations critiques sur l'étiologie et la prophylaxie de la septicémie hemorrhagique, *Off. Int. Épiz.* **8**, 1, 118-155.

8 — PRITCHETT, I. W., BEAUDETTE, F. R. e HUGHES, TH. P. — 1930 — The epidemiology of fowl cholera *J. Exp. Med.,* **51**, 2, 249-258.

9 — PRITCHETT, I. W., BEAUDETTE, F. R. e HUGHES, TH. P. — 1930 — The epidemiology of fowl cholera, *J. Exp. Med.,* **51**, 2, 259-247.

10 — PRITCHETT, I. W. — HUGHES, TH. P. — 1932 — The epidemiology of fowl cholera, *J. Exp. Med.,* **55**, 1, 71-78.

———o———

Vol. 8 — Art. 12 Dezembro de 1937

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DA PESTE DOS "POLMÕES"
(PYOBACILLOSE DOS BEZERROS)

POR

A. M. Penha

Trabalho do Instituto Biologico de S. Paulo

Com as estampas 27-28

Depois dos trabalhos basicos de JENSEN, feitos na Dinamarca ha cerca de 40 annos, e confirmados por notaveis pesquisadores europeus e americanos, sabe-se hoje que as doenças infecciosas dos bezerros, antigamente denominadas genericamente de *pneumo-enterite,* admittem agentes bacterianos diversos, discriminados a seguir com os symptomas mais importantes que provocam: (*)

Bacterium coli — Septicemia, diarréa.

Salmonella enteritidis var. Dublin — Septicemia, diarréa, arthrite, pneumonia.

Diplo-estreptococcos — Septicemia, diarréa, pneumonia.

Pasteurella vituliseptica — Septicemia, pneumonia.

Corynebacterium pyogenes — Pneumonia, omphalophlebite, arthrite.

Bacillo da necrose — Diphteria dos bezerros, pneumonia.

No Brasil, são muito frequentes a infecção coli, o paratypho, a pneumonia por *Pasteurella* e *Cor. pyogenes* e uma outra modalidade clinica, não descripta na literatura estrangeira, vulgarmente chamada peste dos «polmões» (polmão = fleimão, inchação), cujo estudo etiologico constitue o assumpto deste trabalho.

A peste dos polmões não constitue, aliás, novidade na literatura nacional. Anteriormente já fôra estudada no Estado de Minas por DIAS e MARQUES LISBOA (3) que descrevem uma *Pasteurella,* e por MAGALHÃES (11, 12, 13) que responsabilisa um virus como causa primaria e varias bacterias de associação, entre as quaes salienta especialmente um germen Gram-negativo por elle denominado Bacillo de Voges-Vryburg. Para este germen criou MAGALHÃES (13) o genero *Vogesella* na tribu *Pasteurelleae.*

Impressionado pela grande frequencia da molestia nas mais diversas regiões de São Paulo, encetei o estudo cujos resultados passo a descrever.

(*) Exposição geral do assumpto póde ser encontrada nos artigos (8), (9), (10), (15) e (19) citados na bibliographia contida no fim do presente trabalho. Não são equivalentes, mas completam-se mutuamente.

Symptomas — Nos bezerros nóvos, até 2 ou 3 mezes de idade, por vezes mais, caracteriza-se a doença pelo apparecimento de nodulos subcutaneos salientes e bem circumscriptos. Suas dimensões são variaveis: em geral pouco maiores que uma nóz (estampa 27, fig. *A*), alguns podem attingir, comtudo, dimensões bem maiores. Percebe-se então que esses nodulos são molles, cedem á pressão do dedo e deixam sahir por punção ou ruptura, substancia purulenta mais ou menos espessa, de côr amarellada (estampa 27, fig. *B*).

A doença é de evolução lenta; os animaes atacados tornam-se cada vez mais tristes, emmagrecem progressivamente e acabam morrendo em estado de completo marasmo organico. Reveste em geral caracter enzootico; mas no verão, por occasião das chuvas, observa-se frequentemente o recrudescimento da molestia, chegando a tomar em algumas criações caracter verdadeiramente epizootico. Parece tambem estar ligada á deficiencia de hygiene, que no nosso meio é mais accentuada precisamente nessa época.

Nos animaes com bernes (larva de *Dermatobia hominis)*, observa-se frequentemente a morte e suppuração da larva, dando aspecto de polmão; mas esses falsos polmões differenciam-se dos verdadeiros porque, pela observação cuidadosa da pelle, encontra-se, embóra obstruido, o primitivo orificio por onde respirava a larva. Além disso, aberto o abcesso, o exame cuidadoso do pús permite encontrar restos chitinosos da propria larva.

Morphologia — O exame microscopico do pús dos polmões mostra a presença de finos bacillos granulosos, Gram-positivos, dotados de grande pleomorphismo (estampa 28, fig. *C*). Alguns são tão curtos que parecem coccos. Outros apresentam-se entumescidos numa das extremidades, tomando então o aspecto de pequenas clavas. Os elementos typicamente bacillares medem quando muito 1,6 μ de comprimento.

Nas culturas, o aspecto morphologico não é muito differente. Em alguns meios, as granulações apparecem realçadas e são então as unicas a tomarem o Gram; raras, porém, são metachromaticas quando coradas pelo methodo de NEISSER, com prévia semeadura em sôro coagulado. Os germens são immoveis, desprovidos de espóro e não acido-resistentes quando tratados pelo methodo de ZIEHL-NIELSEN.

Isolamento — Confirmando observação de ROLLE (18), o isolamento póde ser obtido com facilidade em placa de agar-sangue. Vinte e quatro horas depois do espalhamento do material na superficie do meio com espatula de DRIGALSKI, nota-se o apparecimento de colonias extremamente pequenas, semelhantes a pontas de alfinete. Com 2 dias

já são bem visiveis; e com 4-5 dias de estufa a 37º C. as maiores podem attingir 1,5-2 mm. de diametro. As colonias são então redondas, leitosas, accentuadamente convexas, revestindo algumas o formato de pequenos hemispherios. Em torno dellas, observa-se no agar-sangue de carneiro a 10 % um halo de hemolyse, mais ou menos extenso (estampa 28, fig. *D)*. A incubação anaerobia pelo processo de RODRIGUES (17) favorece o crescimento das colonias.

Numerosas amostras foram isoladas, mas para o presente estudo utilisamos do pús dos polmões apenas cinco; têm os numeros 196, 198, 201, 3.369, 3.600. As restantes foram isoladas de doenças de etiologia conhecida e aqui incluidas para comparação. Têm as seguintes procedencias: 157, 158 — isoladas de casos de pneumonia de bezerros; PM, PPM e LV — abcessos de porcos (pyobacillose); 3.562, 3.594 — abcessos de bovinos; MF, 3.764 — mammite de vaccas.

Caldo — No caldo simples, as amostras adaptadas aos meios artificiaes de cultura, crescem turvando ligeiramente o liquido e dando pequeno deposito. No caldo sôro de cavallo a 20 %, o crescimento é muito mais abundante, dando flocos que se depositam pelo repouso, mas tornam a se emulsionar, agitando-se o tubo com vigor. Crescimento identico observa-se no caldo tryptico de Hottinger e no caldo nitratado, addicionados de 20 % de sôro normal de cavallo.

Tomando por base a acção favorecedora que a anaerobiose exerce no crescimento destes germens, fomos levados a semeal-os em caldo figado de TAROZZI, coberto por camada de vaselina solida. O crescimento obtido pode ser classificado de bom: não é tão abundante como no caldo sôro, mas dá para turvar bem o liquido, quando se agita o tubo. Mas o que ha de notavel no Tarozzi é a capacidade que elle possue de servir de meio de conservação. A principio, mantinhamos as amostras em agar semisolido em pé, semeando abundantemente no interior do meio com pipeta estirada. Apesar destas precauções, muitas amostras, porém, acabaram-se perdendo. Passando a conserval-as em Tarozzi, verificou-se bem depressa a excellencia do meio para esse fim: o germen, depois de crescido, além de se conservar vivo varios mezes á temperatura ambiente, conserva tambem seu poder pathogenico para animaes de laboratorio (vêr mais adeante).

O tempo de conservação no Tarozzi é superior a 2 mezes para todas as nossas amostras, de 6 mezes para quasi todas e mesmo de 1 anno para algumas.

Agar simples (inclinado) — Não cresce ou cresce muito mal, dando induto difficilmente visivel, constituido de colonias extremamente pequenas.

Gelatina (em pé) — Em temperatura ambiente, cresce mal ao longo da picada, produzindo fusão lenta infundibuliforme.

Sôro coagulado — Vegeta bem, turvando o liquido de condensação e fundindo o meio com poucos dias de permanencia a 37° C.

Leite tornasolado — O comportamento neste meio é muito curioso. Nos 2 primeiros dias, nota-se o apparecimento de pequenos flócos. Estes se depositam, deixando livre uma faixa de liquido em cima. Depois, os flócos se reunem em coagulo compacto e soffrem um processo de digestão lenta. O liquido sobrenadante torna-se transparente, tomando o todo côr de vinho do Porto, indicadora de acidez.

Indol — As amostras eram semeadas em caldo tryptico de Hottinger, addicionado de 20 % de sôro, incubadas a 37° C. e examinadas no 4.° dia com reactivo de Ehrlich-Böhme. Todas deram resultado negativo.

Reducção de nitratos — O meio de cultura utilizado foi caldo-sôro a 20 % mais 0,1 % de KNO^3. Tempo de incubação: 4 dias. Reactivo de Peter Griess, modificado por ILOSVAY von ILOSVA. Resultado: negativo.

Carbohydratos — Nas provas de fermentação de assucares, foi utilizado o seguinte meio de cultura empregado no Instituto Biologico para a rotina dos germens do chamado grupo Coli-Typho-Dysenterico:

Agua distillada	1000 cc.
Peptona Witte	10 g.
NaCl	5 »
Agar.	5 »
Gelatina	3 »

Dissolver no autoclave, 15 minutos a 110° C. Alcalinisar em pH = 7,4-7,6, juntando soda a 4 %. Ferver 15 minutos em banho-maria para precipitar. Filtrar em algodão. Juntar 10 cc. de indicador Andrade. Distribuir em porções de 150 cc. e esterilisar 30 minutos a 110° C.. Para utilisal-o, funde-se o meio acima aquecendo-o em banho-maria; junta-se 1 % do carbohydrato desejado, dissolvido em pequena porção de agua e esterilisado á parte, e distribue-se em tubos estereis. No caso presente, juntaram-se ainda 10 % de sôro normal de cavallo.

Os resultados, lidos com 1, 2, 4 e 8 dias de estufa a 37° C., estão reunidos na tabella 1. Por ella se vê que as amostras estudadas fermentaram intensamente a glycose, levulose, galactose, saccharose, lactose, maltose, dextrina; menos intensamente a mannose; fraca ou negativamente, a salicina e mannita. Nenhuma produziu gaz.

As fermentações positivas, embora fracamente, obtidas na salicina e mannita, provavelmente são devidas á riqueza do meio utilizado na prova. Os autores que têm experimentado estes carbohydratos relatam resultados negativos (2) ou irregulares (14).

Poder pathogenico — Foi experimentado no camondongo branco, cobaya e coelho, com as amostras 196, 198, 3.369, 3.600 e 3.764. Culturas de 20 dias em meio de TAROZZI eram inoculadas por via intraperitoneal nas dóses de 0,2 cc. para o camondongo, 2 cc. para a cobaya e 5 cc. para o coelho.

TABELLA 1

Amostras estudadas	Glycose	Levulose	Galactose	Mannose	Saccharose	Lactose	Maltose	Dextrina	Salicina	Mannita
157	A	A	A	a	A	A	A	A	a	a
158	A	A	A	A	A	A	A	A	a	a
196	A	A	A	a	a	A	A	A	a	a
198	A	A	A	a	A	A	A	A	a	a
201	A	A	A	A	A	A	A	A	a	a
3369	A	A	A	a	A	A	A	A	a	a
3600	A	A	A	A	A	A	A	A	a	a
PM	A	A	A	a	A	A	A	A	o	a
PPM	A	A	A	A	a	A	A	A	a	a
LV	A	A	A	A	A	A	A	A	a	a
3562	A	A	A	a	A	A	A	A	a	a
3594	A	A	A	A	A	A	A	A	a	a
MF	A	A	A	A	A	A	A	A	a	a
3725	A	A	A	a	A	A	A	A	a	a
3764	A	A	A	A	A	A	A	A	a	a

A = Acidez forte. a = Acidez fraca. o = Ausencia de acidez.

Os coelhos correspondentes ás amostras 196, 201, 3.764 e as cobayas correspondentes ás amostras 201, 3.764 morreram entre 5 e 15 dias depois da inoculação, apresentando grandes lesões de peritonite purulenta em fócos e grande reacção fibrosa nas cobayas. Das lesões foram reisolados os germens inoculados.

Dois coelhos e um camondongo morreram sem apresentar lesões e as culturas procedidas foram negativas. Os restantes nada apresentaram. Tomando em consideração o tempo de isolamento das culturas, estes resultados parecem indicar que alem de um anno ellas perdem o poder pathogenico.

Diagnose differencial — *Corynebacterium pyogenes* é uma bacteria de facil diagnose. Collocada no genero pelos caracteres de sim-

ples morphologia, coloração ao Gram, acido-resistencia negativa, immobilidade e ausencia de espóro, differencia-se de outros germens do mesmo genero por varias propriedades culturaes muito nitidas.

Tres são as bacterias de interesse veterinario que se podem confundir com *Cor. pyogenes*. Para facilitar a diagnose, reuno na tabella 2 as principaes propriedades que permittem differencial-os entre si, de accordo com os melhores trabalhos publicados sobre o assumpto. Os numeros contidos no quadro referem-se ás citações bibliographicas, e os dados omissos foram completados com os elementos fornecidos por MERCHANT (14) que féz recentemente um estudo de conjuncto do grupo que nos interessa.

TABELLA 2

Especies bacterianas	Crescimento em agar simples	Hemolyse	Fusão da gelatina	Fusão do sôro coagulado	Sôro tornasolado	Glycose	Saccharose	Lactose	Maltose	Dextrina	Reducção de nitratos	Producção de toxina	Pathogenicidade para Cobaya	Pathogenicidade para Coelho	Observações
Cor. pyogenes (2)	—	+	+	+	CDgA	A	A	A	A	A	—	—	—	+	Produziria tambem toxina soluvel, segundo Lovell (20).
Cor. pseudo tuberculosis (ovis) (1,6,16)	—	+	—	—	O	A	O	O	A	O	—	+	+	+	Produz pellicula na superfice do caldo e dá reacção de Strauss na cobaya macho.
Cor. renalis (7)	+	—	—	—	RCDgK	A	O	O	O	O	—	—	—	—	
Cor. equi (4)	+	—	—	—	O	O	O	O	O	O	+	—	—	—	Produz pigmento avermelhado nos meios de cultura.

C = Coagulação. Dg = Digestão. R = Reducção. A = Acido. K = Alcali.

Cor. pyogenes é incontestavelmente o mais importante agente de suppurações nos animaes domesticos. Desde as observações iniciaes de LUCET (1893) em suppurações de bovinos, elle tem sido descripto por GRIPS (1898) no porco, com o nome de «Bac. pyogenes suis», por KÜNNEMANN (1903) novamente no boi, com o nome de «Bac. pyogenes bovis», e depois numa série de tecidos e animaes por numerosos investigadores. GLAGE (1903) identificou todos elles sob o nome de «Bac. pyogenes» e BROWN e ORCUTT (1920) puzeram-no definitivamente no genero *Corynebacterium* de LEHMANN e NEUMANN.

No Brasil, é extremamente commum nos processos suppurativos dos animaes domesticos, principalmente no porco e no boi. E' encon-

trado nos abcessos, na bronchopneumonia enzootica dos leitões e dos bezerros e nas mastites das vaccas, causando grandes prejuizos. Sua identificação na peste dos polmões dos bezerros, vem trazer mais uma contribuição para a importancia pathogenica deste germen, por si já tão grande em outras doenças.

Conclusões — Na peste dos polmões, obtem-se dos abcessos fechados cultura pura de uma bacteria identica a *Corynebacterium pyogenes*. A doença póde ser, por isso, denominada «pyobacillose» dos bezerros.

ABSTRACT

«Peste dos polmões», a popular name for a commum disease of calves in Brazil, is so called on account of a number of abscesses found in the skin. In the pus there is found a fine, pleomorphic, Gram positive bacillus. It does not grow on plain agar, but can be isolated without difficulty on blood agar; the colonies are small and hemolytic. By the cultural properties, described in the text, this bacillus is identical to several strains of Corynebacterium pyogenes isolated from cases of pneumonia in calves, swine pyobacillosis and mastitis of cows.

Cor. pyogeness grows well in liver bouillon after Tarozzi, *under a solid vaseline layer; its viability is of several months duration. Strains kept in this medium are still pathogenic for rabbits one year after its isolation.*

BIBLIOGRAPHIA

1 — Andrews, F. W. e outros — 1923 — Diphteria. *Medical Research Council,* London. *Cf.* p. 414.

2 — Brown, J. H. e Orcutt, M. L. — 1920 — A study of Bacillus pyogenes. *J. Exp. Med.,* 32: 219-248.

3 — Dias, E. e Marques Lisboa, H. — 1912 — Peste dos polmões. *Rev. Vet. Zootech.,* Rio de Janeiro, 2: 280-285.

4 — Dimock, W. W. e Edwards, P. R. — 1931 — Corynebacterium equi in pneumonia in foals. *J. Am. Vet. Med. Ass.,* 79: 809-812.

5 — Glage, F. — 1929 — Entzündungs-und Eitererreger bei Haustieren. Em Kolle, Kraus, Uhlenhuth — Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, 6 : 563-604.

6 — Hall, I. C. e Jones, R. V. — 1916 — The diphteroid bacillus of Preisz-Nocard from equine, bovine and ovine abscesses : Ulcerative lymphangitis and caseous lymphadenitis. *J. Inf. Dis.,* 18 : 195-208.

7 — Jones, F. S. e Little, R. B. — 1926 — The organism associated with specific infectious cystitis and pyelonephritis of cows. *J. Exp. Med.,* 44 : 11-20.

8 — Lovell, R. e Hughes, D. L. — 1935 — Diseases of young calves : a bacteriological examination of 100 cases. *J. Comp. Path. Therap.,* 48 : 267-284.

9 — Lütje, F. — 1926 — Aufzuchtkrankeiten. Em Stang und Wirth — *Tierheilkunde und Tierzucht,* 1 : 710-728.

10 — Lütje, F. — 1931 — Septische Erkrankungen der Neugeborenen. Em Stang und Wirth — *Tierheilkunde und Tierzucht,* 9 : 352-376.

11 — MAGALHÃES, O. — 1923 — A peste dos polmões. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, **16**: 71-183.

12 — MAGALHÃES, O. — 1928 — «Peste dos polmões». *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, **21**: 373-380.

13 — MAGALHÃES, O. — 1931 — A peste dos «polmões». *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, **25**: 317-321.

14 — MERCHANT, I. A. — 1935 — A study of the Corynebacteria associated with diseases of domestic animals. *J. Bact.*, **30**: 95-116.

15 — MIESSNER, H. e WETZEL, R. — 1929 — Infektiöse Aufzuchtkrankheiten der Tiere. Em Kolle, Kraus, Uhlenhuth — Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, **6**: 605-650.

16 — MINETT, F. C. — 1922 — Diphteroid bacilli from animals. *J. Comp. Path. Therap.*, **35**: 291. Ref. *Bull. Inst. Pasteur*, **21**: 137.

17 — RODRIGUES, C. — 1936 — O isolamento de anaerobios em placas. Modificações do processo Fortner. *Arch. Inst. Biol.*, **7**: 227-233.

18 — ROLLE, M. — 1928 — Morphologische und Kulturelle Eigenschaften des Bakterium pyogenes. *Deut. tier. Woch.*, **36**: 585-590.

19 — TRAUM, J. — 1923 — The relation of colostrum to immunity of newborn calves. *Cornell Vet.*, **13**: 135-148.

20 — LOVELL, R. — 1937 — Studies on Corynebacterium pyogenes, with special reference to toxin production. *J. Path. Bact.*, **45**: 339-355.

EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

Estampa 27

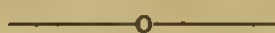
Fig. A — Bezerro atacado de peste dos polmões.
Notar na pelle as pequenas protuberancias redondas.

Fig. B — Polmão grande, suppurado.

Estampa 28

Fig. C — Bacillo da peste dos polmões, corado pelo methodo de GRAM. Ampliado 1000 ×.

Fig. D — Aspecto das colonias no agar-sangue com 4 dias de incubação a 37º C.



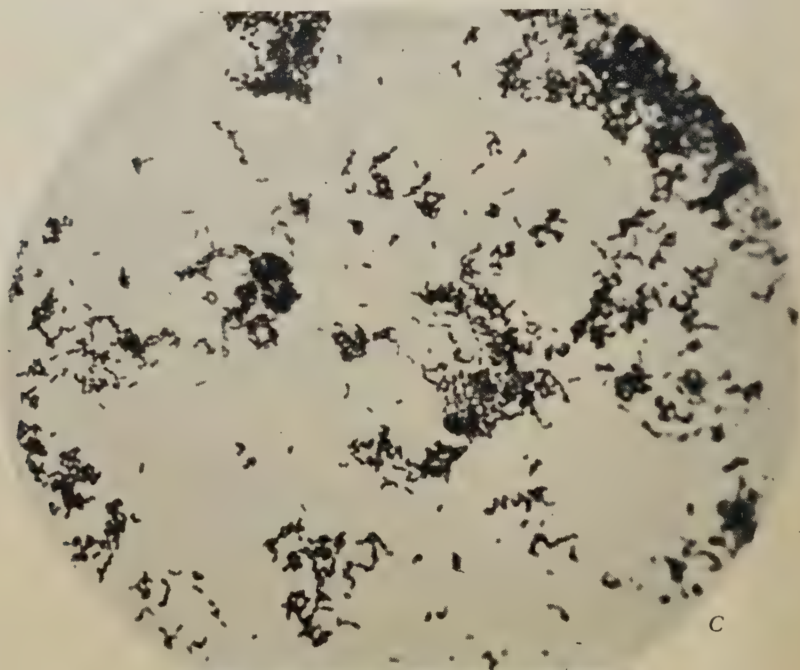
Estampa 27

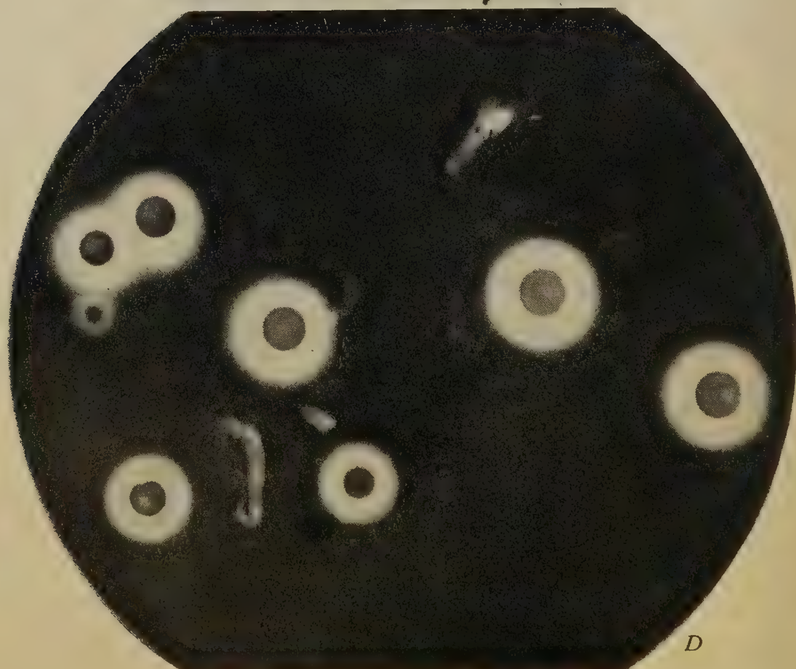


A



B


C


D

Vol. 8 — Art. 13 Dezembro de 1937

NOVAS ESPECIES DE SPHACELOMA SOBRE TERMINALIA E GENIPA

POR

A. A. Bitancourt

Trabalho do Instituto Biologico de S. Paulo

Com as estampas 29-30

Da tabella das especies de *Elsinoe* e *Sphaceloma* publicada por JENKINS e BITANCOURT (1) constam 4 especies novas americanas, das quaes duas do continente norte americano foram descriptas em outra publicação (2) sendo objecto do presente trabalho a descripção das duas outras, encontradas sobre amendoeira da praia («chapeo de sol», *Terminalia catappa* L.) e genipapeiro *(Genipa americana* L.) no Brasil.

Sphaceloma terminaliae n. sp.

Nas folhas, manchas salientes nas duas faces, redondas, com 0,5 a 3 mm de diametro; na face superior pulvinadas, côr de castanha mais ou menos escura *(dark livid brown* a *warm blackish brown)* (3), posteriormente deprimidas no centro e cobertas dos signaes pretos do fungo; na face inferior, fortemente deprimidas e até crateriformes, de cor pardo-clara *(pinkish buff);* nas nervuras, manchas salientes alongadas; nas fructas, manchas salientes arredondadas ou irregulares, de 1 a 6 mm. de diametro, de côr pardo-clara *(vinaceous pinkish buff)* no centro, cintadas de pardo-acinzentado-escuro *(clove brown),* frequentemente coalescentes em áreas grandes, corticosas, fendilhadas; acervulos pretos, erumpentes, de 20 a 100 μ de diametro, geralmente coalescentes e mais ou menos continuos no centro das manchas, oriundos de um plectenchyma hyalino que invade todos os tecidos da mancha, substituindo-os parcialmente; camada externa dos acervulos ou conidiophoros coalescentes, formando uma palissada de cellulas escuras, irregulares, de 15 a 25 μ de altura; conidias hyalinas, ovaes ou alongadas, septadas no momento da germinação, $4 - 6 \times 10 - 15\ \mu$ (em cultura); microconidias abundantes, cobrindo os acervulos, ovaladas, de 0,5 a 1 μ de diametro.

Sobre meio de cultura de batata dextrose agar, em frascos de Petroff, thallo concentrado, saliente, convoluto, de crescimento lento, coberto de pennugem densa e de côr pardo-azeitona claro *(olive buff)* ou amarello claro *(pale olive buff* ou *marguerite yellow)* no centro, mais rala na peripheria, que tem côr castanho-avermelhada *(Indian red).*

(1) JENKINS, A. E. e A. A. BITANCOURT. Doenças das plantas causadas por fungos dos generos Elsinoe e Sphaceloma. Primeira Reunião dos Phytopathologistas do Brasil. Rodriguesia. (Numero especial): 305-313. 1936. Depois da apresentação desse trabalho no Rio de Janeiro em Janeiro de 1936, o numero de especies desses fungos ou de fungos visinhos foi consideravelmente augmentado com a descoberta de novos representantes na America do Sul, e principalmente no Brasil. Parte desses novos representantes já tinha sido assignalada no trabalho em questão (nota 3, p. 306). Elles serão descriptos em publicações posteriores.

(2) JENKINS, A. E. New species of Sphaceloma on Aralia and Mentha. Journ. Washing. Acad. Sci. 27: 412-414. 1937.

(3) As cores são indicadas approximadamente, em portuguez. A indicação precisa em inglez, é tirada de: RIDGWAY, R. Color standards and color nomenclature. 43 pp. 1912.

Maculas in foliis et fructis numerosas, 0,5-6 mm. in diam., superne pulvinatas, livido-brunneas vel fusco-brunneas, inferne crateriformes et roseolo-alutaceas producens; acervulis epiphyllis, erumpentibus, 20-200 μ in diam., saepe continuis; palis compactis, conidiophoris fuscis conglutinatis compositis; conidiis continuis vel bicellularibus, hyalinis, ovatis vel elongatis, 4-6 × 10-15 μ.

Sobre folhas e fructos vivos de *Terminalia catappa* L. causando uma verrugose no Estado de São Paulo. Especimens depositados no herbario da Secção de Phytopathologia do Instituto Biologico de São Paulo sob os seguintes numeros: 1573, Santos, 5 de Abril de 1934, H. S. Lepage (typo, tambem depositado nas collecções mycologicas do Bureau of Plant Industry, U. S. Department of Agriculture, Washington, D. C., Estados Unidos, sob o numero 69514); 1937, Santos, 9 de Abril de 1935, H. S. Lepage; 2107, Santos, 21 de Outubro de 1935, H. S. Lepage; 2108, São Vicente, 21 de Outubro de 1935, H. S. Lepage; 2170, Santos, 24 de Março de 1936, A. A. Bitancourt; 2182, Santos, 9 de Abril de 1936, A. E. Jenkins; 2469, Santos, 25 de Janeiro de 1937, H. S. Fawcett. A doença foi egualmente constatada em Bertioga (A. E. Jenkins e K. Silberschmidt, 8 de Maio de 1936) e em Itanhaen (A. E. Jenkins, H. P. Krug e A. S. Costa, 10 de Maio de 1936 [4]).

Sphaceloma genipae n. sp.

Nas folhas ainda novas e em estado de crescimento, manchas arredondadas, de 1 a 8 mm. de diametro, isoladas ou coalescentes, de côr castanho-claro-avermelhada *(carrot red* a *pecan brown)*; alongadas e frequentemente coalescentes quando situadas ao longo ou por cima das nervuras, obstando ao desenvolvimento normal da folha, a qual se enruga e se torna bolhosa; posteriormente seccas, de côr castanho muito clara *(vinaceous buff)* no centro, castanho escura *(Natal brown)* na peripheria, dilacerando-se no centro, que perde os seus tecidos, ficando perfuradas e sómente com estreita beira dos tecidos seccos em volta; acervulos epiphyllos, erumpentes, numerosos, brancos ou pardos, arredondados ou então alongados e dispostos radialmente nas manchas redondas, longitudinalmente nas manchas alongadas das nervuras, com 10-20 × 20-200 μ, sobre uma base plectenchymatica intraepidermica hyalina, reduzida ou nulla, com palissada de conidiophoros oblongos, amarello-claro, com 10 a 20 μ de largura; conidias hyalinas, continuas, globosas ou ovaes, com 3 × 3-6 μ, microconidias hyalinas, continuas, globosas ou alongadas, com 0,5 a 2 μ de comprimento.

Sobre meio de cultura de batata-dextrose agar, em frasco de Petroff, thallo concentrado, saliente, convoluto, coberto de pennugem pardo-acinzentada mais ou menos clara *(pale vinaceous drab* até *vinaceous drab)* meio de cultura com côr de vinho tinto *(Bordeaux* até *burnt lake)* em torno do thallo.

Maculas in foliis aridas, rotundas, vel elongatas et nervisequentes, 1-8 mm. in diam. interdum in centro exscissas et lacunam relinquentes producens; foliis infectis distortis, rugatis; acervulis epiphyllis, numerosis, erumpentibus, rotundis vel elongatis, 10-20 × 20-200 μ; palis conidiophororum flavidulis, 10-20 μ crassis; conidiis globosis vel ovatis, hyalinis, continuis, 3 × 3-6 μ.

---

(4) Segundo foi observado por A. E. JENKINS, a doença não parece atacar *Terminalia catappa* e *T. arjuna* na região de Miami, Florida, Estados Unidos. Tambem não a encontramos sobre *T. catappa* na Capital Federal.

Sobre folhas vivas de *Genipa americana* L. causando uma anthracnose no Estado de São Paulo. Especimens depositados no herbario da Secção de Phytopathologia do Instituto Biologico de São Paulo sob os numeros: 1808, Cantareira, 15 de Janeiro de 1935, E. RACT; 1962, Cantareira, 29 de Março de 1935, E. RACT (typo, tambem depositado nas collecções mycologicas do Bureau of Plant Industry, U. S. Department of Agriculture, Washington, D. C. Estados Unidos, sob o numero 69515); 2684, Cantareira, 26 de Maio de 1936, A. E. JENKINS & E. RACT.

ABSTRACT

Sphaceloma terminaliae n. sp. causes scab of Terminalia catappa L. and Sphaceloma genipae n. sp. causes anthracnose of Genipa americana L. in the State of São Paulo, Brazil. A latin diagnosis of both fungi is given.



EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

Estampa 29

Figs. A-G — *Sphaceloma terminaliae* sobre *Terminalia catappa*. *A-C* sobre folha. *A*, approximadamente × 1/2; *B*, detalhe da face inferior × 5; *C*, detalhe da face superior, × 5; *D*, sobre fructas × 1; *E-F-G*, Acervulos sobre lesões das folhas, *a* palissada de conidiophoros, *b* abundantes microconidias, × 500.

Fig. H — Esporos no inicio da germinação, × 250.

Fig. I — Cultura de 60 dias sobre meio de batata-dextrose-agar, em frasco de Petroff, × 1.

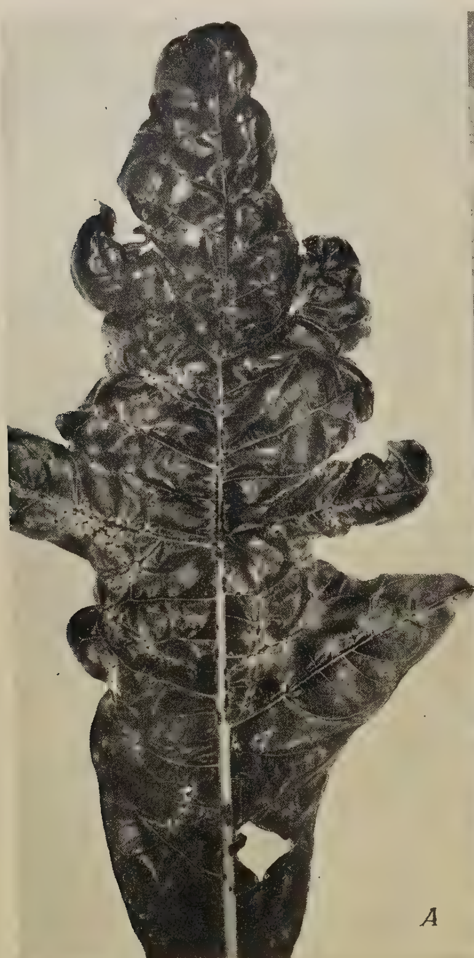
Estampa 30

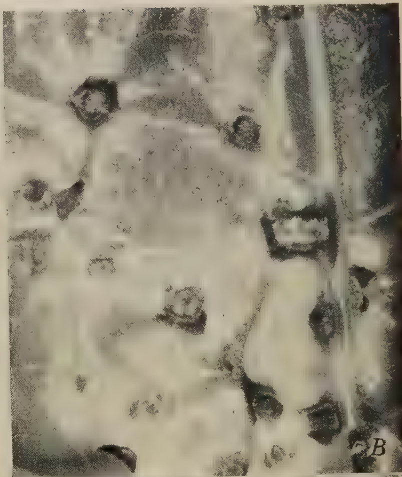
Figs. A-E — *Sphaceloma genipae* sobre *Genipa americana*. *A-C* sobre folhas. *A*, approximadamente × 1/2; *B* e *C*, detalhes da face superior da folha, × 5; *D-E*, Acervulos, *a* palissada de conidiophoros, *b* esporos × 500.

Fig. F — Cultura de 60 dias sobre meio de batata-dextrose-agar, em frasco de Petroff; × 1.



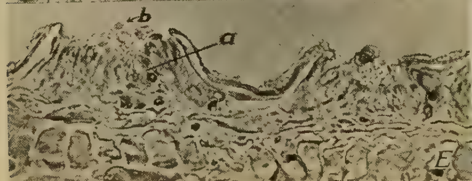

A
B
C
D
E
a
b
F
G
H
I

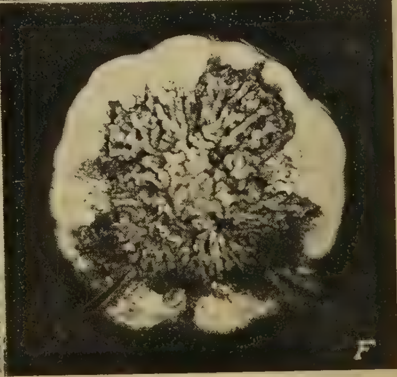

A


B


C


b
a
D


b
a
E


F

Vol. 8 — Art. 14 Dezembro de 1937

O APPARECIMENTO DE PHLYCTAENODES BIFIDALIS (FAB.) COMO PRAGA DO ALGODOEIRO NO BRASIL. (LEP. PYRAUSTINAE)

POR

H. F. G. Sauer

Trabalho do Instituto Biologico de S. Paulo

Com 3 figuras no texto e estampas 31-32

INTRODUCÇÃO

A especie sob nossa consideração, apezar de bastante diffundida no Estado de São Paulo, não foi até presentemente observada atacando a cultura algodoeira.

A primeira verificação como praga de algodoeiros foi feita em 27 de Novembro de 1936 por E. J. HAMBLETON, entomologista do Instituto Biologico, na Fazenda Pindorama, municipio de Gallia, na zona Noroeste do Estado.

Conjuntamente com essa especie encontrou uma outra pertencente á mesma subfamilia, ainda não identificada, cuja biologia e prejuizos á cultura são muito semelhantes aos da especie tratada.

Esses pyraustineos praticamente destruiram toda a lavoura, cuja área era approximadamente de 175 hectares.

Que se saiba, os prejuizos causados por essas especies nunca tiveram elevado valor economico, visto que as plantas preferidas são communs e não cultivadas. E' possivel que em annos anteriores tivessem acarretado algumas perdas á cultura do Estado, não se conhecendo a sua importancia. E' uma praga eventual, de facil adaptação, sendo o seu ataque de grande intensidade desde que, por qualquer circumstancia, lhe faltem os hospedeiros usuaes.

Do material colhido e trazido para a determinação e tambem de lagartas recebidas do municipio de Baurú, sobre algodoeiros, obtiveram-se os adultos com os quaes iniciamos os trabalhos em laboratorio.

Os specimens remettidos para o Museu Nacional dos Estados Unidos foram determinados por W. SCHAUS.

Comquanto percorressemos culturas de algodão de outras localidades da mesma região, não constatamos a sua existencia nos algodoaes, permanecendo as lagartas em seus hospedeiros preferidos: os carurús *(Amaranthus* sp.) e beldroégas *(Portulacca* sp.), onde foram observados os seus habitos naturaes.

A biologia foi feita unicamente durante o periodo de Novembro a Abril.

Ao Dr. E. J. HAMBLETON agradecemos as informações que forneceu sobre os prejuizos causados aos algodoaes, e tambem as suggestões e o interesse com que acompanhou os trabalhos; e ao Dr. F. C. HOEHNE, chefe da Secção de Botanica do Instituto Biologico, pelas determinações da maioria das especies de plantas hospedeiras. Agradecemos tambem a collaboração da Sta. M. Lourdes N. Aquino.

SYNONYMIA

Phlyctaenodes bifidalis foi primeiramente descripta por FABRICIUS como *Phalaena bifidalis*. ([1]) G. F. HAMPSON, ([2]) na revisão que fez das borboletas dessa subfamilia, cita os synonymos seguintes: *Phlyctaenodes inornatalis* WLK., *Eurycreon evanidalis* BERG., *E. obsoletalis* BERG. e *Botys orbitalis* FELD.

DISTRIBUIÇÃO GEOGRAPHICA

Tanto quanto nos foi possivel observar, os adultos foram encontrados em differentes regiões, sendo admissivel a possibilidade da sua diffusão geral por todo o Estado. Foi constatada a sua presença nos municipios de São Paulo, Campinas, Tieté, Boituva, Itú, Indayatuba, São João da Bôa Vista, Catanduva, Baurú, Marilia e Gallia.

De accordo com a litteratura que nos foi accessivel, é encontrado em Porto Rico, ([3]) tendo sido a diagnose original baseada em material proveniente das Antilhas. ([1])

PLANTAS HOSPEDEIRAS

No campo, as plantas commumente atacadas são os carurús (*Amaranthus hibridus* L. e *A. spinosus* L.) e as beldroégas (*Talinum patens* (JACQ.) WILLD. e *Portulacca oleracea* L.). Em Gallia, quando pelo cultivo, foram eliminadas essas plantas que muito infestavam alguns novos algodoaes, as lagartas se transferiram para os algodoeiros (*Gossypium hirsutum* L.) ainda pequenos (estampa 32). Em laboratorio conseguiu-se ainda crial-as em *Celosia cristata* L., *Amaranthus caudatus* L. e *Portulacca elatior* MAST.

OVIPOSIÇÃO

Accidentalmente tivemos occasião de encontrar um casal em copula, a qual se prolongou por mais de 5 horas, quando, por ter morrido o macho, tentamos separal-os. Infelizmente a femea tambem morreu no dia immediato. Excluida essa vez, nunca mais se presen-

1) FABRICIUS — Ent. Syst. - Tom III, pars 2, p. 232. 1794.
2) G. F. HAMPSON — A Revision of the Moths of the Subfamily Pyraustinae and Family Pyralid. Proc. Zool. Soc. London, part. II, p. 210, 1889.
3) G. N. WOLCOTT — Insetae Borinquenses - Jour. of Agric. of the Univ. of Puerto Rico - Vol. XX, n.o 1, p. 466, 1936.

ciou outra copula. Em laboratorio os casaes foram collocados em mangas (vidros de lampeão) onde se incluiram partes de plantas vivas e uma mistura de partes iguaes de agua e mel como alimento. As femeas, depois de acasaladas, iniciaram a postura com um intervallo que variou de 12 horas a 2 dias. A postura foi feita principalmente ao anoitecer, tendo sido, porém mais raramente, constatada durante o dia. Os ovos são depositados geralmente na face inferior da folha, em grupos que variaram de 2 a 28, havendo-se encontrado uma massa com 31; em média, 11 ovos por grupo. Raramente, e quasi sómente no fim da postura, foram vistos ovos isolados. Nessas massas os ovos são superpostos como escamas, de formas variaveis, não resguardados, e estão ordinariamente junto a uma nervura. Varias vezes se verificou a postura na margem superior da folha, pedunculo e caule; isso porém é menos commum. O numero de ovos postos por cinco femeas foi 1.372, dando uma média de 274,5 ovos para cada uma, durando a oviposição oito dias em média, e sendo o maximo dez e o minimo sete dias. A postura diaria variou entre 5 e 101 ovos, o que forneceu uma média de 38 ovos por dia. Nas condições existentes, 100 % dos ovos vingaram.

TABELLA 1

Resumo do cyclo de vida de *Phlyctaenodes bifidalis* (Fab.), Campinas, 1937.

Phases da vida	Duração em dias			N.º de Individuos	Temperaturas medias ºC.		
	Maxima	Minima	Media		Maxima	Minima	Media
Ovo	4,50	3,00	3,73	105	27,0	22,3	24,3
Larval.	21,00	14,00	17,80	18	28,5	22,0	24,3
Prepupal. . . .	8,00	2,00	3,88	12	29,0	24,0	25,3
Chrysallida . . .	11,00	7,00	8,30	19	29,0	23,0	25,6
Ovo até adulto .	39,00	27,00	29,56	14	29,0	22,0	24,8

O OVO

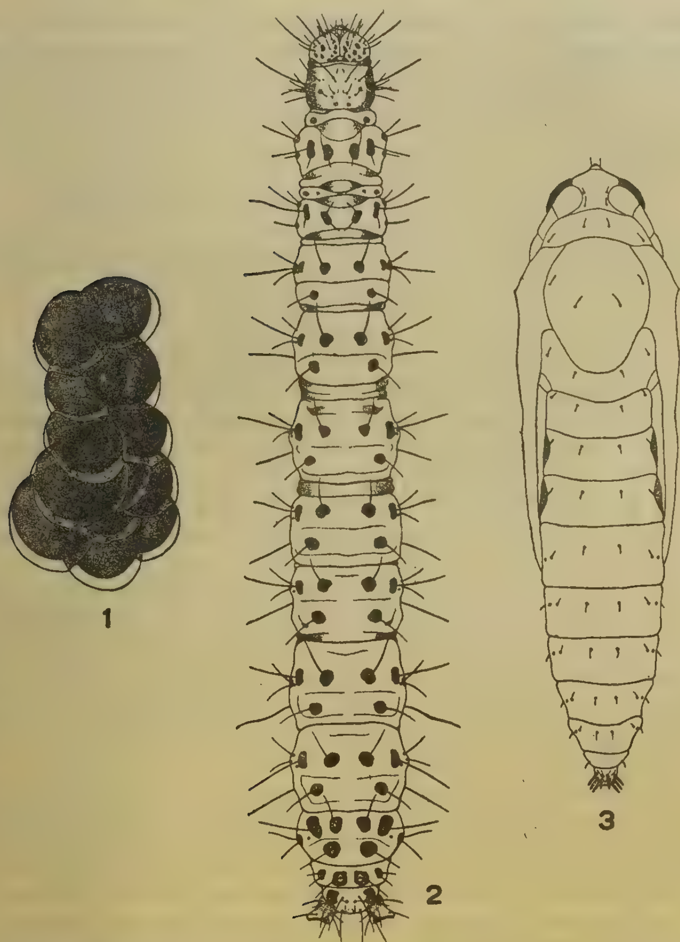
Os ovos (fig. 1) são brancos depois da postura, mas em poucas horas tornam-se amarellados. Essa coloração se accentúa até ao amarello claro, transformando-se gradativamente em pardo, horas antes da eclosão. No segundo dia já se nota a formação dos ocellos, vendo-se inicialmente duas manchas castanho claras que passam a pardo escuras no terceiro dia. Algumas horas antes da eclosão observa-se tambem a coloração castanha das mandibulas. Antes do nascimento a lagarta e seus movimentos são distinctamente visiveis. Para emergir

a lagarta come o chorion, o sufficiente para poder sahir, deixando atraz de si a casca esbranquiçada e irisada. A eclosão se verifica geralmente 3 a 4 dias depois da postura.

Mede em média 0,730 mm. por 0,591 mm. E' oval arredondado, achatado, com margem delicada; a forma varia quando agrupados. Côr branca, que passa a amarella. Chorion flexivel, pouco resistente, transparente, recticulado e irisado.

HABITOS DA LAGARTA

As lagartas recemnascidas são activas. Em laboratorio constatou-se que, estando os ovos abrigados da luz directa, as lagartinhas permaneceram proximas dessa região, mais ou menos agrupadas. Caso contrario, procuraram um lugar mais escuro, nem sempre se reunindo. Geralmente, pouco depois de deixar o ovo, dispõem convenientemente as cerdas com o apparelho buccal, procurando alimentar-se em seguida. Outras, depois de encontrar o local apropriado, constroem uma protecção com teia, sob a qual se localizam, alimentando-se a seguir. Algumas vezes notou-se mais de uma, commumente duas lagartas sob o mesmo abrigo. Se porventura as condições desse lugar não são favoraveis, procuram outro. As brotações ou axillas das folhas são os lugares preferidos nos primeiros estadios. Essa protecção constituida de teia, inicialmente tenue e delicada, vae-se adensando á medida que o crescimento larval se verifica. Commumente as lagartas reunem folhas e brótos ou dobram as folhas, ficando occultas no interior dessa especie de ninho. A esse tecido se juntam grãos de areia, detrictos vegetaes e excrementos, de tal modo que fica constituida uma camara fortemente protegida. Os excrementos são depostos fóra do ninho, porém agregados a uma de suas extremidades, lateralmente ou na parte superior. Sempre que algum factor as perturbe insistentemente, mudam de lugar e recomeçam a construcção da nova protecção e, quando o ninho é damnificado, em pouco tempo o refazem. As lagartas comem a face inferior da folha, deixando unicamente a epiderme superior. Esta sécca e fragmenta-se, dando lugar a furos nas folhas (estampa 32); muitas vezes toda a folha fica inutilizada, principalmente nos ultimos estadios da lagarta. Se a planta é pequena ou a folhagem é escassa e insufficiente, as lagartas comem tambem as hastes e ramificações, começando da extremidade de alguma brotação e penetrando pelo interior do caule em busca da parte mais tenra. Quando as plantas atacadas são de pequeno porte o prejuizo é, geralmente, total. Ao se transferirem de um para outro local, sempre o fazem deixando uma teia por onde passaram. Isso contribue para que grãos de areia, etc. se aggreguem a essa teia, emprestando á planta já prejudicada um aspecto muito caracteristico e desagradavel. Apesar



Phlyctaenodes bifidalis (Fab.). Fig. 1 — Grupo de ovos, augmentado 19 × (A. R. Mazza del.). Fig. 2 — Lagarta adulta, augmentada 7 × (A. R. Mazza del.). Fig. 3 — Chrysallida, augmentada 10 × (Autor del.).

das lagartas se alimentarem de dia, mostraram maior voracidade ao anoitecer. Em todas as idades são muito activas. Tocadas, defendem-se, afastando-se bruscamente do objecto que as perturba. Quando plenamente desenvolvidas, descem ao solo para se enchrysallidar.

DESCRIPÇÃO DOS ESTADIOS

Para os individuos criados isoladamente em tubos de vidro e em placas de petri de 8 cms. de diametro, regularmente suppridos com

alimento e tanto quanto possivel observados ás mesmas horas de cada dia, constataram-se, sob as condições de temperatura expressas, cinco estadios larvaes. A duração de cada um se resume na tabella 2, onde tambem se mencionam as larguras da capsula da cabeça para os differentes estadios.

TABELLA 2

Duração dos estadios larvaes de *Phlyctaenodes bifidalis* (Fab.), Campinas, 1937

Estadios larvaes	Duração em dias			N.º de Individuos	Largura da capsula da cabeça em mms.		
	Maxima	Minima	Media		Maxima	Minima	Media
I	5,50	3,00	3,78	50	0,272	0,272	0,272
II	3,00	2,00	2,43	48	0,435	0,353	0,396
III	4,00	2,00	2,90	48	0,652	0,543	0,635
IV	4,00	2,00	3,20	46	1,032	0,924	0,983
V	9,00	4,00	5,42	38	1,410	1,300	1,370

1.º Estadio — Cabeça castanho escura, lisa, brilhante; sutura epicraneal e margem posterior pretas; mandibulas castanho clara com as extremidades castanho escuras; ocellos pardo escuros a pretos; cerdas longas, pallidas e delicadas. Corpo branco, levemente amarellado antes de se alimentarem, tornando-se, depois de ingerido o alimento, esverdeado; escudo do prothorax uniformemente amarello pardacento com manchas pardas; cerdas geralmente compridas e pallidas, inseridas em tuberculos pardacentos ou pardos. Vista com augmento maior, a superficie do corpo mostra-se finamente granulada.

2.º Estadio — Cabeça amarello pardacenta com grupos de manchas pardo amarelladas; sutura e margem posterior castanho escuras, tendo esta uma mancha escura na região posterior aos ocellos; area frontal mais clara. Corpo esverdeado na parte dorsal e amarellado na ventral; escudo do prothorax amarello esverdeado com os bordos lateraes pardos e manchas castanhas. Tuberculos do corpo pardos, porém nem sempre completamente coloridos; porção central pardo escura, tendo no centro uma area branca onde se inserem as cerdas, de côr mais clara. Placa sobreanal pouco mais escura que o corpo, com manchas pequenas pardas e pontos de inserção das cerdas pardo escuros.

3.º Estadio — Cabeça semelhante ao estadio anterior com a coloração e manchas mais pronunciadas. Corpo idem, com a côr dos tuberculos mais distincta.

4.º Estadio — Cabeça e corpo semelhante ao estadio anterior. Os tuberculos, em diversos segmentos, ás vezes perdem a côr uniforme, ficando a porção não colorida quasi com a coloração do corpo.

5.º Estadio — Cabeça amarello parda, lisa, brilhante, com grupos de manchas pardas; sutura e margem posterior castanho escuras, tendo esta, na região posterior aos ocellos, uma mancha preta; ocellos pretos; antennas com segmento apical castanho, que se torna mais pronunciado na extremidade; man-

dibulas castanho com as extremidades bem escuras; esclerite adfrontal pouco mais escura que a cabeça, ladeada externamente por uma faixa esbranquiçada. Corpo verde claro na face dorsal e amarello esverdeado na ventral; escudo do prothorax amarello pardo esverdeado com manchas pardas; margens lateraes do escudo de côr pardo escura. Tuberculos dorsaes do corpo pardo escuros a preto, com uma região branca no local da inserção das cerdas; a côr desses tuberculos, ás vezes não é uniforme; tuberculos IV a VIII com a coloração semelhante á do corpo, orlados de pardo, com a area central parda, de onde saem as cerdas inseridas sobre a area branca; placa sobreanal amarello esverdeado escura, com as regiões lateraes e dorsal pardas, notando-se manchas da mesma côr, em forma de colar, pouco abaixo da mancha superior central. Garras das falsas patas triordinaes, formando um circulo aberto no lado externo.

A coloração verde da lagarta quando inteiramente desenvolvida, quando se vae transformar em chrysallida, desmaia em amarello esverdeado, amarellado e amarello roseo. Algumas tornam-se inteiramente rosadas, com o vaso dorsal nitidamente roseo. Pela descoloração do corpo, os tuberculos tornam-se bem distinctos.

CASULO E CHRYSALLIDA

Attingindo o completo desenvolvimento, a lagarta, geralmente antes de descolorir, tece o casulo (estampa 31, fig. *B*). Collocadas as lagartas crescidas em terra, dentro de caixas de criação com os lados providos de vidro, os casulos foram construidos, em parte, unidos ao vidro, de forma que foi facil acompanhar a transformação em prepupa (estampa 31, fig. *B-a*), que não apresenta caracteristicas especiaes. No casulo a lagarta permanece voltada para a superficie do solo. Nas placas de petri, onde 18 individuos foram postos, essa operação durou poucas horas. Sempre que haja terra, os casulos são nella construidos. No campo o casulo é feito no solo, a pouca profundidade, ou logo abaixo da sua superficie. Comquanto a natureza do terreno tenha pouca influencia, notou-se que a forma e disposição são um tanto modificadas nos solos compactos. No campo, sob a planta hospedeira, já começando da haste, sempre se encontra uma mistura de teia com terra e detrictos vegetaes e, sob ella, no solo, preparados os casulos. Só raramente se encontraram casulos distanciados mais de 40 cms. do pé da planta. Geralmente essa distancia não ultrapassa de 10 cms. O casulo é alongado, ligeiramente mais largo no terço inferior. E' forte, tecido com seda fina e cinzenta, todo envolvido externamente com grãos de areia, torrões, restos de vegetaes, tendo o aspecto de um torrão. E' construido geralmente na posição vertical ou obliqua, internamente verificando-se duas camaras: uma inferior, maior, onde a lagarta se enchrysallidará, e outra superior. Separando as lojas existe um septo delicado. Não é raro encontrarem-se casulos com tres camaras, dispostas: ou duas superiores, ou uma

acima e outra abaixo da camara de chrysallidação. Em laboratorio obtiveram-se casulos em posições muito diversas; todos porém mantinham a extremidade anterior em connexão com a superficie da terra. O seu tamanho varia entre 1,3 - 2,6 cms., com a média de 1,96 cms. de comprimento por 0,3 - 0,5 cms. de diametro médio, com a média de 0,4 cms. Da eclosão do ovo até a construcção do casulo foram precisos, em média, 16,8 dias, sendo a temperatura média, durante esse prazo, de 25,8° C, maxima e 22,6° C., minima.

DESCRIPÇÃO DA CHRYSALLIDA

A chrysallida (fig. 3) tem em média 9,78 mms. de comprimento por 2,63 mms. de largura, sendo as medidas maximas e minimas 11 mms. × 3 mms. e 8 mms. × 2 mms., respectivamente. Côr amarello a amarello ambar, com cabeça, thorax, appendices e cremaster castanho claro; suturas castanho, definindo a forma dos diversos orgãos. Os lados são quasi parallelos, existindo no mesothorax, approximadamente no plano imaginario que o divide transversalmente ao meio, de cada lado, um processo constituido por uma saliencia angulosa bem distincta.

Cabeça angulosa, com suas porções distinctas, tendo na fronte, na face ventral, um par de cerdas dirigidas para a frente e no vertice, proximo á inserção das antennas, 2 pares de cerdas. Ocellos salientes. No prothorax encontram-se 2 pares de cerdas, o primeiro pouco á frente do par de estigmas mesothoraxico e o segundo na porção mais dorsal. No meso e metathorax, existem, em cada um, 2 pares de cerdas.

Nos primeiro, segundo e terceiro segmentos abdominaes, superiormente aos estigmas que, no segundo e terceiro segmentos, estão situados entre rugas do segmento, nota-se uma pequena cerda. Nos demais segmentos essas cerdas se dispõem uma acima e outra abaixo dos estigmas que se apresentam normalmente. Dorsalmente cada segmento apresenta um par de cerdas e na face ventral notam-se, do quinto ao setimo segmentos, pequenas cerdas, anteriormente ás cicatrizes das falsas patas. O orificio anal é desenvolvido, saliente, coberto de pellos pequenos e numerosos.

O cremaster é um processo arredondado, tendo de cada lado um grupo de 4 espinhos, fortes, disposto um mais central superiormente aos 3 outros lateraes.

DESCRIPÇÃO DO ADULTO

Envergadura 17 a 26 mms.; comprimento do corpo 8 a 10 mms. (estampa 31, fig. *A*). Palpos pardo amarellados na porção externa, brancos nas faces ventral, basal e interna. Cabeça com a região frontal pardo amarellada, marginada por duas faixas brancas situadas superiormente aos olhos, surgindo pouco atraz dos ocellos e em direcção convergente para a frente. Antennas filiformes e levemente comprimidas lateralmente, caracter este mais pronunciado no macho. Thorax e abdomem amarello creme, com a região dorsal pouco mais escura e porção mesothoraxica provida de algumas escamas ferrugineas. Face dorsal das azas anteriores amarella creme, com muitas escamas ferrugineas e margem costal mais pardacenta; uma faixa pardo ferruginea surgindo do apice se extende até proximo ao meio da aza onde, em angulo, se dirige para a margem dorsal; essa faixa se expande com coloração menos pronunciada em direcção da margem apical; superiormente ao angulo dessa faixa encontra-se uma

mancha ferruginea. Approximadamente no terço basal das azas se encontram tres pequenas manchas ferrugineas e irregulares; a que se approxima da margem costal é maior e alongada. Margem apical com pontuações pardo ferrugineas e com franjas amarello creme. Face ventral amarello clara com reflexos purpureos. Uma faixa fusco claro se bifurca na região apical formando um Y com a base expandida e recurvada para o lado interno; na região mediana proximo á margem costal ha uma mancha arredondada fusco pallida e no terço basal existem duas manchas fusco pallidas, irregulares. Face dorsal das azas posteriores cinerea, com reflexos purpureos e coloração fusca que se pronuncia principalmente na margem apical, attingindo mais ou menos um terço do comprimento das franjas que, nos dois terços restantes, são amarello creme. Pontuações da margem fusca, pouco distinctas. Face ventral com coloração mais pallida do que a dorsal. Patas com coloração semelhante á do corpo.

No macho a face dorsal das azas anteriores é mais uniformemente amarellada, sendo as manchas pouco pronunciadas. Na face ventral apresenta a mancha em Y e, na porção quasi mediana, uma mancha circular. Azas posteriores identicas ás da femea.

SUGGESTÕES PARA O COMBATE

Em virtude dos habitos de *Phlyctaenodes bifidalis* (Fab.) torna-se difficil o seu combate por intermedio de insecticidas. A maneira das lagartas se localizarem na margem inferior das folhas; construirem uma protecção de teia, excrementos e agrupamentos da folhagem e brótos; alimentarem-se deixando a epiderme superior, impede que os agentes chimicos pulverizados tenham acção efficaz. Sendo esse pyraustineo praga de plantas communs que infestam as áreas cultivadas, convem que as culturas sejam mantidas o mais possivel no limpo. Em caso de uma região vir a ser assolada por essa praga, será aconselhavel destruir os seus hospedeiros não sómente na área cultivada, como tambem em outros locaes. Uma vez que os carurús e beldroégas que se desenvolvam nos campos de cultura estiverem praguejados, desde que as capinas ou cultivos sejam feitos para eliminar a concorrencia prejudicial á cultura, as lagartas, repentinamente sem alimento, transferem-se para os algodoeiros, destruindo-os, quando ainda novos. Pelos cultivos serão prejudicados parte dos casulos onde estão as chrysallidas, evitando-se a sahida de muitos adultos e, por conseguinte, de novas gerações.

ABSTRACT

In this paper the author presents biological studies of the pyralid, Phlyctaenodes bifidalis (Fab.), *a new pest appearing on cotton for the first time in the State of São Paulo. Recommendations for control include the destruction of the insect's common host plants, Amaranthus hibridus L., A. spinosus L., Talinum patens* (Jacq.) Willd. *and Portulacca oleracea* L.

———o———

EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

Estampa 31

Fig. A — *Phlyctaenodes bifidalis* (Fab.) ♀ × 5 1/2 (B. Mazza phot.).
Fig. B — Casulos de *P. bifidalis* (Fab.), *a* — Prepupa, *b* — Chrysallida. × 3 1/2 (B. Mazza phot.).

Estampa 32

Algodoeiros novos atacados pelas lagartas de *Phlyctaenodes bifidalis* (Fab.), um pouco reduzido (E. J. Hambleton phot.).





A



B



Vol. 8 — Art. 15 Dezembro de 1937

SOBRE UM VIRUS TRIPATHOGENICO DE BOUBA DE CANARIO

POR

J. Reis e P. Nobrega

Trabalho do Instituto Biologico de S. Paulo

Com as estampas 33-34

Em relação á sua pathogenicidade para gallinha, pombo e passaros em geral, o virus da bouba póde ser dividido actualmente em 3 typos, que se comportam do seguinte modo:

1) O virus de gallinha ataca, além desta especie, o perú e a angola, mas é apathogenico para o pombo e passaros (4, 6, 9);

2) O virus do pombo não pega em gallinha ou apenas determina reacção discreta, que não se generaliza; igualmente não se transmitte aos passaros (3, 4, 9).

3) O virus dos passaros é apathogenico para pombo e gallinha (3, 4, 5, 6).

De um modo geral o virus é chamado monopathogenico quando apresenta o comportamento acima descripto: todavia, em relação á gallinha e ao pombo, têm sido descriptos virus bipathogenicos, isto é, capazes de infectar ambas as especies (2, 8, 10, 12); do mesmo modo tem-se descripto adaptação do virus da gallinha ao pombo, e vice-versa, mas isso sómente quando o virus já é, de inicio, bipathogenico (1). A pathogenicidade para uma determinada especie é reconhecida histologicamente pela pesquisa de inclusões cytoplasmicas especificas, pois os signaes clinicos, como erupção, reacção inflammatoria etc., podem ser inespecificos (1, 4, 9). E' necessario não confundir os virus bipathogenicos com os virus mixtos que experimentalmente se podem obter pela superinfecção com virus heterologo, de uma ave já infectada por outro typo de virus, e que são passiveis de serem dissociados por meio de passagens successivas nas especies homologa e heterologa (1).

Excepcionalmente, podem os passaros ser infectados com virus de gallinha. Neste sentido, Burnet (3) refere uma raça de virus de gallinha que produz no canario uma doença mortal com todas as caracteristicas da infecção produzida pelo virus de canario estudado por Kikuth e Gollub. (5). Desconhecemos na literatura referencia á infecção de passaros pelo virus de pombo ou á infecção de gallinha e pombo pelo virus de passaro. Burnet (3), trabalhando com o virus de canario de Kikuth e Gollub (5), consegue determinar no pombo uma inflammação subaguda da pelle e tecido subcutaneo, transmissivel em

série, mas refere a ausencia de inclusões especificas nas cellulas epitheliaes. Do mesmo modo, EBERBECK e KAYSER (4) observam apenas uma reacção inespecifica do chorion em gallinha e pombo inoculados com virus de canario.

Entre os passaros, já descrevemos (7) epizootias de bouba em canario do reino *(Serinus canarius)* e colleirinha *(Sporophila* sp.); em ambos os casos os virus eram apathogenicos para pombo e gallinha. Posteriormente, novo virus isolado de canario do reino se mostrou pathogenico (inclusões especificas) para canario da terra *(Sicalis flaveola)*, avinhado *(Oryzoborus angolensis)*, colleirinha *(Sporophila* sp.) e completamente innocuo para azulão *(Cyanocompsa cyanea)*, pardal *(Passer domesticus)*, pinto e pombo.

Recentemente observamos nova epizootia numa criação de 100 canarios *(Serinus canarius* e *Sicalis flaveola)*, que acarretou a morte de 98 desses animaes. O virus isolado determina inclusões especificas no canario, pinto e pombo e conserva sua tripathogenicidade mesmo após numerosas passagens em cada uma dessas especies animaes, o que exclue a hypothese de se tratar dum virus mixto. Assim o virus original soffreu 15 passagens successivas, respectivamente em canario, pinto e pombo, ao fim das quaes o material retirado de cada especie era pathogenico para as outras duas e apresentava nas cellulas epitheliaes inclusões protoplasmicas acidophilas, typicas do virus da bouba.

A virulencia conservou-se praticamente a mesma no decurso das passagens, e nas tres especies as lesões, em geral extensas, ás vezes se generalizavam, principalmente quando se utilizavam animaes novos.

Experiencias de immunização:

Oito pombos são vaccinados no peito, lado direito, com o virus da 12.ª passagem em canario, que determina em 6-8 dias nitida reacção em todos os animaes inoculados. Um mez depois, 4 pombos são inoculados no lado opposto com virus de pombo e os outros 4 com o virus tripathogenico de canario. Todos se mostram absolutamente immunes. Quatro pombos testemunhas, tratados dum lado do peito com virus-pombo e do outro com o virus tripathogenico de canario, apresentam typica reacção de bouba.

Cinco canarios, tratados nas mesmas condições pelo virus-canario, mostram-se immunes a uma reinfecção artificial tentada um mez depois.

Cinco pintos, vaccinados contra a bouba de gallinha, mostram-se do mesmo modo immunes ao virus-canario e, inversamente, 5 pintos inoculados com virus-canario resistem, um mez depois, a infecção pelo virus de gallinha.

RESUMO

Os autores descrevem um virus de bouba isolado de canario da terra *(Sicalis flaveola)* e do reino *(Serinus canarius)*, pathogenico para gallinha e pombo, e que determina em todos esses animaes o apparecimento de inclusões epitheliaes typicas da bouba.

O virus conserva a sua tripathogenicidade mesmo após numerosas passagens em canario, pinto e pombo, o que exclue a hypothese de se tratar dum virus mixto, e immuniza todos esses animaes contra a inoculação dos virus monopathogenicos respectivos. Inversamente, pintos e pombos immunizados contra a bouba mostram-se immunes á infecção pelo virus tripathogenico isolado do canario.

ABSTRACT

The authors describe a strain of avian pox virus which presents the peculiarity of being tri-pathogenic, as shown by its ability to infect chicks, pigeons and passerines. The virus should not be considered a mixed one since it does not dissociate into mono-pathogenic strains even after 15 serial passages through chicks, pigeons and canary birds.

The virus was isolated from canary birds (Serinus canarius and Sicalis flaveola) suffering from severe pox disease, which caused 98 % of deaths among them. It induces the formation of typical inclusion bodies within the epithelial cells of the skin of chicks, pigeons and canarybirds.

Birds vaccinated with the strain of pox virus above described display a high degree of resistance against a reinfection with the same virus and with those of fowl and pigeon pox.

Chicks and pigeons can be successfully immunized against the canary pox virus by a previous infection with the viruses of fowl and pigeon pox respectively.

BIBLIOGRAPHIA

1 — Bierbaum, K., Eberbeck, E., Rasch, K. e Kayser, W. — 1931 — Weitere Untersuchungen ueber Gefluegelpocken. *Zeit. f. Infktk.*, **39**: 141-159.

2 — Bierbaum, K. — 1935 — Ueber bipathogenes Taubenpockenvirus. *Arch. f. wiss.* Tierhlk., **69**: 439-440.

3 — Burnet, F. M. — 1933 — A virus disease of the canary of the fowlpox group. *Jour. Path. and Bact.*, **37**: 107-122.

4 — Eberbeck, E. e Kayser, W. — 1932 — Ueber das Vorkommen von Pockenerkrankungen bei Kanarienvoegeln, Buchfinken und Sperlingen. *Arch. f. wiss. Tierhlk.*, **65**: 307-310.

5 — Kikuth, W. e Gollub, H. — 1932 — Versuche mit einem filtrierbaren Virus bei einer uebertragbaren Kanarienvogelkrankheit. *Cent. f. Bakt.*, I., O., **125**: 313-330.

6 — Lahaye, J. — 1930 — Contribution á l'etude comparative de diverses varioles animales. *Ann. Med. Vet.*, **75**: 515-521.

7 — Reis, J., Nobrega, P. e Reis, A. S. — 1936 — Tratado de doenças das Aves, 468 pgs., São Paulo, Brasil: pp. 14 e 18.

8 — Saito, T. — 1926 — Geflügelpockenkoerperchen und Guarnierische Koerperchen. *Cent. f. Bakt.*, L. C., **98**: 391-394.

9 — TIETZ, G. — 1932 — Ueber die Empfaenglichkeit verschiedener Vogelarten fuer eine Infektion mit originaerem Huehner- und Taubenpockenvirus. *Arch. f. wiss. Tierhlk.*, **65**: 246-255.

10 — ZWICK, W. — 1930 — Fowl-pox and corysa (discussion). *11th. Int. Vet. Cong.*, **1**: 424-425.

EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

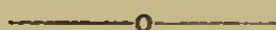
Estampa 33

Fig. A — Corte de pelle do canario. Notar as inclusões determinadas pelo virus tripathogenico de bouba. (A. Federman phot.)

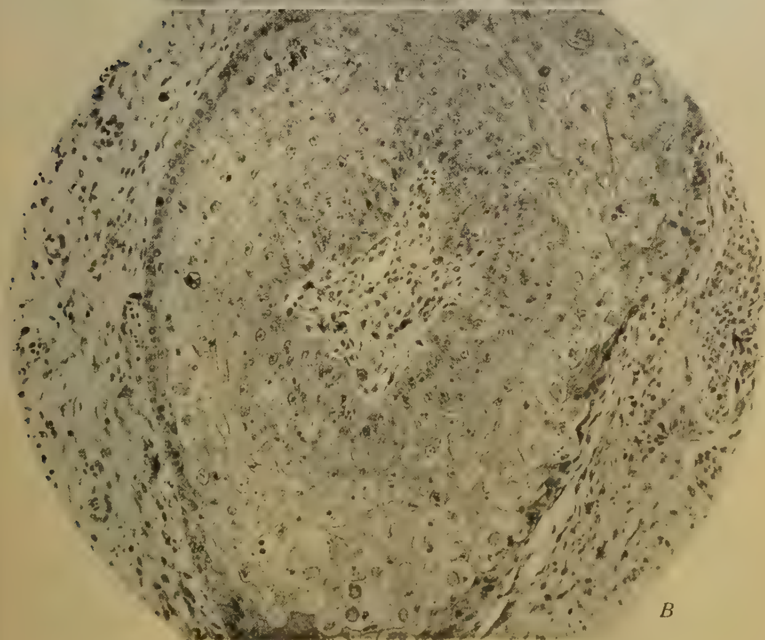
Fig. B — Corte de pelle de pinto, com inclusões produzidas pelo virus tripathogenico. (A. Federman phot.)

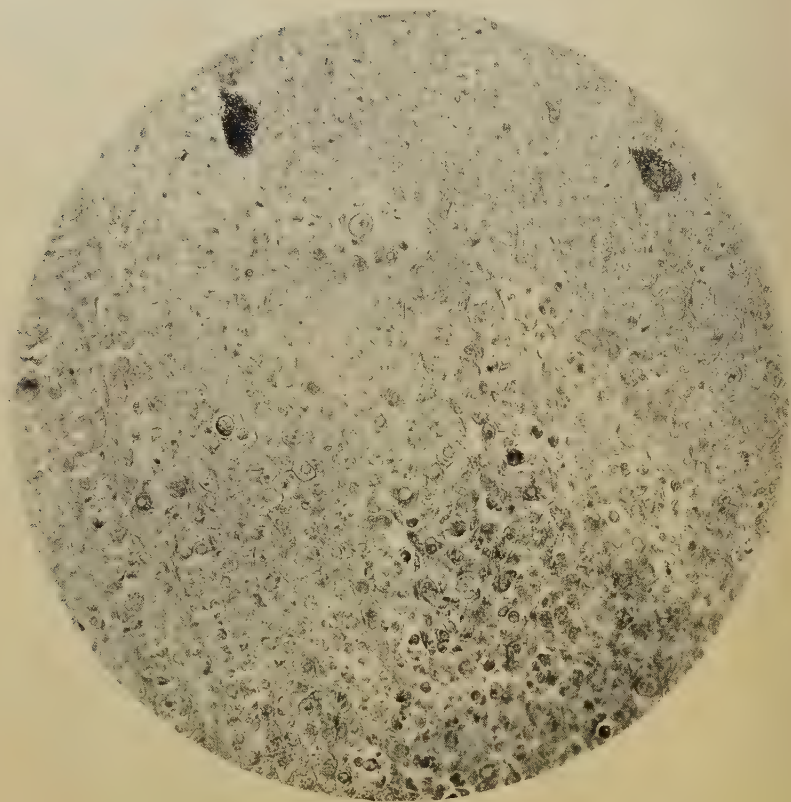
Estampa 34

Corte de pelle de pombo, mostrando inclusões produzidas pelo virus tripathogenico (A. Ferdeman phot.)




A


B



Vol. 8 — Art. 16 Dezembro de 1937

RHABDITIS HAMBLETONI n. sp., NEMA APPARENTEMENTE SEMIPARASITO DA "BRÓCA DO ALGODOEIRO" (GASTEROCERCODES BRASILIENSIS)

POR

C. Pereira

Trabalho do Instituto Biologico de S. Paulo

Com 12 figuras no texto

Ha cerca de um anno o Dr. E. HAMBLETON teve a amabilidade de nos enviar para estudo uma larva de *Gasterocercodes brasiliensis* HAMBLETON, 1937, a «bróca do algodoeiro», que havia sido encontrada em um pé de algodoeiro colhido no municipio de Campinas (Est. de S. Paulo); seu exame revelou a presença de nematoides habitantes da cavidade geral, dos quaes conseguimos estudar bem algumas femeas. Feitas tentativas para nova colheita de material, não pudemos entretanto obter outras brócas infestadas.

Em Janeiro do corrente anno conseguiu novamente o Dr. E. HAMBLETON encontrar mais dois exemplares mortos, da referida praga, desta vez em uma plantação do municipio de Marilia. Tendo-nos sido entregue para estudo esse material, verificamos novamente a presença do mesmo nematoide já encontrado anteriormente.

Interessados na obtenção de mais material para esclarecer devidamente suas particularidades bionomicas, fizemos no mez seguinte, em Fevereiro, uma viagem aos municipios de Marilia, Gallia e Fernão Dias, tendo então opportunidade de visitar varios algodoaes, todos em terrenos arenosos, prestando particular attenção ás plantações situadas em terrenos baixos e mais humidos bem como ás encontradas em lugares elevados e mais seccos.

Em um lote de 46 larvas obtidas de algodoeiros situados á margem de um corrego, em Marilia, na mesma fazenda onde já havia sido encontrado previamente o nematoide pelo Dr. E. HAMBLETON, conseguimos obter uma unica larva morta, da bróca, apresentando quatro femeas maduras do mesmo nema. As restantes quarenta e cinco larvas, cuidadosamente dissecadas, não revelaram o nema em questão, o mesmo acontecendo com cerca de quatrocentas larvas de varias proveniencias, colhidas nos municipios vizinhos.

Portanto, ficamos com a noção da extrema raridade do referido nematoide, explicando assim nossa impossibilidade em esclarecer exactamente sua ecologia, o que esperamos realizar logo que seja pos-

sivel obter material mais abundante; por ora somos obrigados a nos limitar a identificar o nema e a registrar o que pudemos saber a seu respeito.

Agradecemos ao Dr. E. HAMBLETON, a quem dedicamos esta especie, a determinação do coleoptero hospedeiro, bem como o interessante material que nos forneceu.

FORMAS ENCONTRADAS NAS INFESTAÇÕES NATURAES

Rhabditis hambletoni n. sp.

LARVAS DO 4.º ESTADIO

Figs. 1 e 2

As larvas deste estadio são encontradas na cavidade geral do hospedeiro e se caracterisam por accentuada hypertrophia das cellulas intestinaes, que passam gradualmente a assumir a funcção de reserva nutritiva, o que se nota especialmente nas femeas; outro caracter interessante é o desenvolvimento muito grande das gonadas, principalmente nos machos, onde assumem um tamanho relativo comparavel ao apresentado pelo helmintho adulto.

Larvas de machos (fig. 1): comprimento, cerca de 0,51 a 0,56 mm.; espessura, approximadamente de 0,38 a 0,52 mm.; cuticula apparentemente lisa.

Extremidade anterior com bocca simples, seguida de minusculo vestibulo; esophago rhabditoide, medindo de 0,07 a 0,10 mm. de comprimento, terminando por um bulbo posterior que tem de 0,013 a 0,016 mm. de diametro, ao passo que o bulbo anterior, alongado, mede cerca de 0,009 mm. de espessura. Annel nervoso a cerca de 0,069 a 0,079 mm. da extremidade anterior. Poro excretor situado a 0,08 mm. da extremidade anterior.

Testiculo unico, iniciando-se a cerca de 0,04 a 0,06 mm. do bulbo esophageano, dirige-se posteriormente.

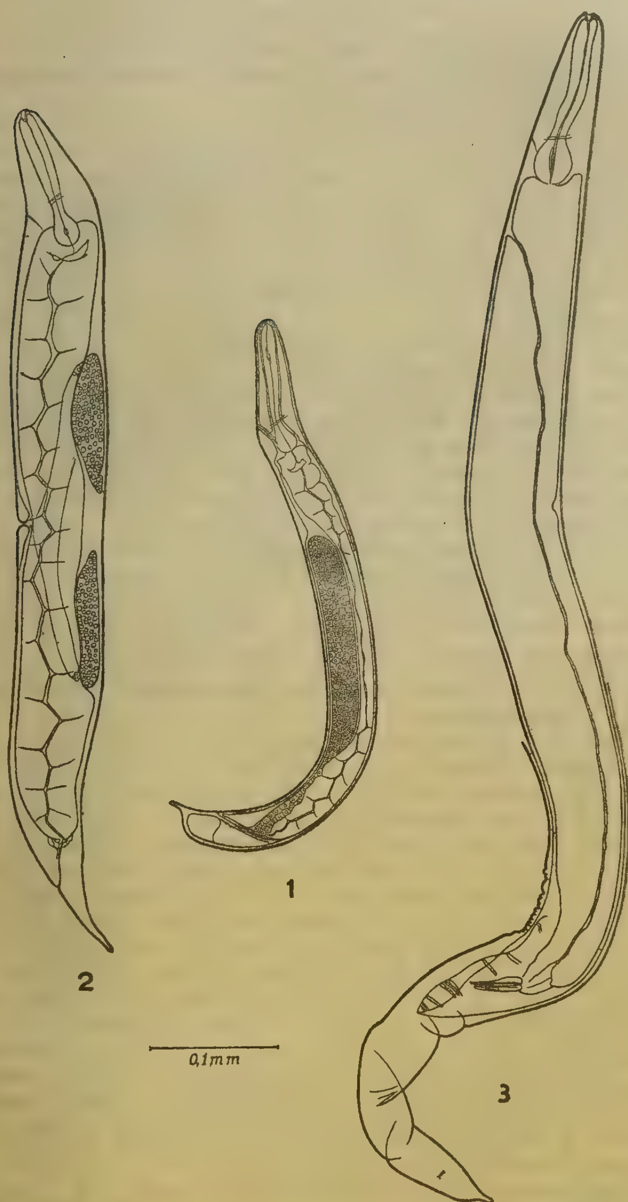
Extremidade posterior um pouco encurvada ventralmente, termina em ponta que fica situada no prolongamento da face ventral; abertura da cloaca de 0,01 a 0,03 mm. da extremidade posterior. Ausencia de quaesquer formações taes como azas, papillas, etc., o que constitúe mais um caracteristico deste estadio evolutivo.

Larvas de femeas (fig. 2): comprimento, cerca de 0,6 mm.; espessura, cerca de 0,07 mm. Cuticula apparentemente lisa.

Apparelho digestivo analogo ao das larvas de machos; esophago com cerca de 0,1 mm. de comprimento; bulbo posterior, cerca de 0,026 mm. de diametro; bulbo anterior, cerca de 0,015 mm. de espessura. Annel nervoso situado a cerca de 0,07 mm. da extremidade anterior. Poro excretor a cerca de 0,08 mm. da extremidade anterior. Anus a 0,06 mm. da extremidade posterior.

Extremidade posterior afilada.

Vulva situada a 0,35 mm. da extremidade posterior; uteros divergentes e flacidos; ovarios compactos, alongados, de situação dorsal, iniciando proximo á altura da vulva; o ovario anterior dirige-se para diante, chegando até cerca de 0,08 mm. do bulbo esophageano; o posterior dirige-se para traz, terminando equidistantemente do anterior.



Rhabditis hambletoni n. sp. (infestação natural). Fig. 1 — Larva de macho. Fig. 2 — Larva de femea. Fig. 3 — Macho adulto.

ADULTOS

Helminthos de côr esbranquiçada, pequenos.

Machos: comprimento, cerca de 0,8 mm.; espessura, approximadamente 0,06 mm.. Cuticula apparentemente lisa.

Extremidade anterior com bocca simples, dando entrada a minusculo vestibulo; esophago rhabditoide, medindo cerca de 0,13 mm. de comprimento, terminado por um bulbo posterior sem apparelho valvular evidente, medindo cerca de 0,027 mm. de diametro; bulbo anterior cylindrico, separado do bulbo posterior por discreto estreitamento, medindo de espessura 0,013 mm.. Annel nervoso a cerca de 0,09 mm. da extremidade anterior. Poro excretor situado a 0,10 mm. da extremidade anterior.

Testiculo unico, iniciando-se a cerca de 0,04 mm. do bulbo esophageano, dirige-se posteriormente.

Extremidade posterior um pouco encurvada ventralmente, termina em ponta relativamente curta e é provida de amplas azas caudaes, que iniciam a cerca de 0,11 mm. da extremidade posterior para nella terminarem; cada aza caudal é sustentada por 3 papillas filliformes precloacaes, das quaes 1 no inicio da aza e 2 agrupadas pouco antes da cloaca, medindo a maior cerca de 0,018 mm. de altura, decrescendo o tamanho ligeiramente a partir da cloaca para diante; mais 6 papillas tambem filiformes postcloacaes, de tamanho approximadamente igual, sendo 3 agrupadas no fim do terço anterior da cauda e 3 proximas á extremidade posterior; existem dois espiculos iguaes, com a extremidade distal afilada, medindo cerca de 0,041 mm. de comprimento; ha um gubernaculo com a metade do comprimento dos espiculos.

Nossa descripção é baseada em um exemplar que foi obtido no momento em que effectuava sua 4.ª ecdyse, como o desenho o mostra (fig. 3); outros exemplares se achavam nas mesmas condições mas não foi possivel approveital-os.

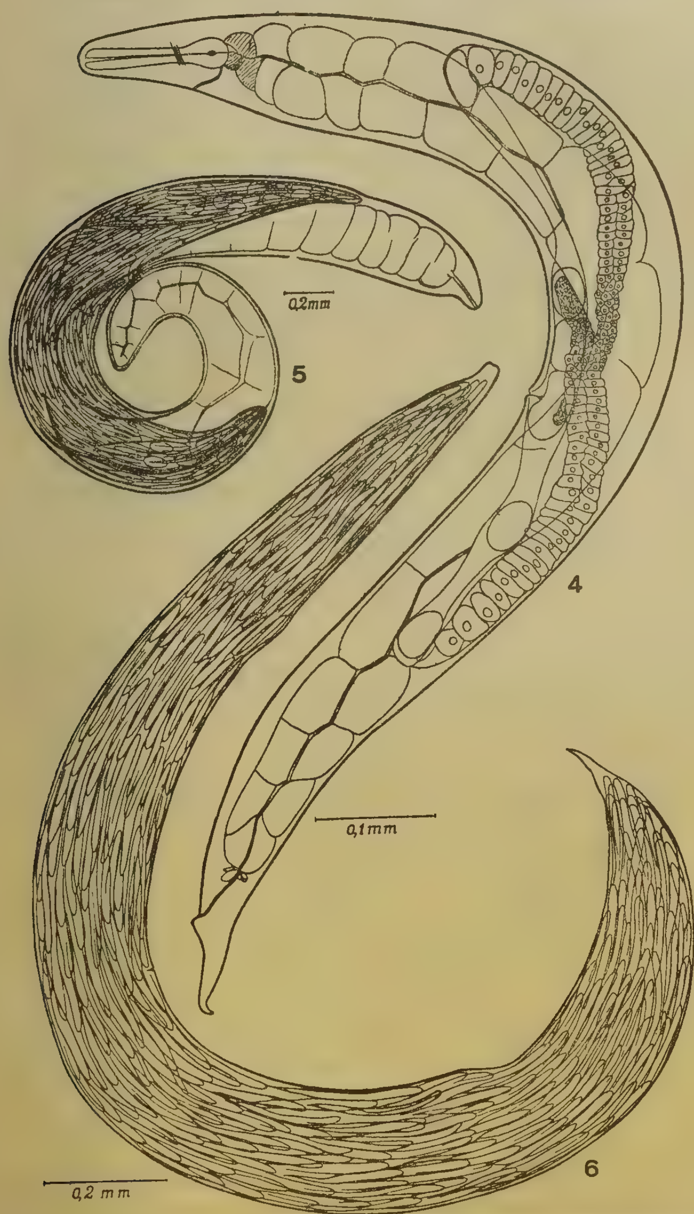
Femeas (fig. 4): comprimento, cerca de 1,2 mm.; espessura, approximadamente 0,10 mm.. Cuticula apparentemente lisa.

Apparelho digestivo analogo ao dos machos, apenas com muito maior hypertrophia das cellulas intestinaes, que ficam abarrotadas de gotticulas de reservas nutritivas, o que muito prejudica a bôa visibilidade do material; deve ser assignalado o facto de que as duas primeiras cellulas intestinaes, a partir do esophago, apresentam um aspecto mais claro que as demais; esophago rhabdítoide, medindo cerca de 0,11 mm. de comprimento; bulbo anterior com cerca de 0,009 mm. de espessura; bulbo posterior medindo 0,023 mm. de diametro. Annel nervoso a cerca de 0,08 mm. da extremidade anterior. Poro excretor situado a 0,09 mm. da extremidade posterior. Anus a 0,09 mm. da extremidade posterior.

A extremidade posterior termina afilando-se rapidamente.

Vulva, com labios pouco sallientes, situada a 0,6 mm. da extremidade posterior; vagina curta e flacida; uteros divergentes, flacidos; ovario anterior iniciando proximo á altura da vulva, dirigindo-se para a frente, chegando até cerca de 0,18 mm. do bulbo posterior do esophago; ovario posterior iniciando pouco adiante da vulva, dirigindo-se para traz, até cerca de 0,35 mm. da extremidade posterior do corpo. Viviparas.

Estas formas femeas que denominamos adultas vão soffrer posteriormente modificações que são de molde a alterar bastante sua organisação. Primeiramente, continúa a se dar a hypertrophia das cellu-



Rhabditis hambletoni n. sp. (infestação natural). Fig. 4 — Femea adulta. Fig. 5 — Femea madura. Fig. 6 — Femea completamente madura.

las intestinaes, que se tornam cada vez mais carregadas de gotticulas; esta reserva alimentar destina-se muito provavelmente a nutrir as larvas que irão desenvolver-se no utero materno até o 2.º estadio evolutivo. Em segundo lugar, os ovos produzidos entram logo em segmentação, produzindo larvas, cujo numero cresce gradativamente até á repleção completa do organismo materno. Deste phenomeno, que podemos denominar «maturação», é bom exemplo o representado na fig. 5, de um exemplar medindo 2,4 mm. de comprimento e 0,1 mm. de espessura; seu esophago mede 0,17 mm. de comprimento; a vulva dista 1,2 mm. da extremidade posterior; o ramo anterior do utero chega a 0,4 mm. do esophago, ao passo que o ramo posterior dista 1,1 mm. da extremidade posterior.

Na fig. 6, vemos um exemplar no fim da «maturação», medindo 4,0 mm. de comprimento e 0,33 mm. de espessura. O corpo todo da femea acha-se repleto de larvas do 2.º estadio do helmintho.

Hospedeiro: *Gasterocercodes brasiliensis* HAMBLETON, 1937.

Localização: cavidade geral.

Proveniencia: Campinas, Marilia (Est. de S. Paulo). Brasil.

LARVAS DO 1.º ESTADIO

Fig. 7

São de typo rhabditiforme, encontradas no organismo materno e, ao ser a femea madura fixada em formol a 10 %, as larvas deixam-se fixar em todas as posições possiveis e em diversos estados de contracção, o que explica a divergencia das medidas que apresentamos:

Comprimento:	0,17	0,23	0,24	0,29	0,30	0,36
Espessura:	0,015	0,016	0,016	0,015	0,018	0,020
Compr. do esophago:	0,044	0,072	0,056	0,076	0,079	0,086
Diametro do bulbo:	0,008	0,012	0,006	0,009	0,012	0,013
Espessura da parte ant. do esophago:	0,005	0,006	—	0,006	0,005	0,006
Annel nervoso:	—	0,056	—	—	0,062	0,062
Compr. da cauda:	—	0,036	—	0,063	0,052	0,075
Compr. do recto:	—	—	—	0,018	0,020	0,020

Essas larvas já apresentam um esboço genital nitido a meia altura do intestino.

As larvas do 1.º estadio effectúam a 1.ª ecdyse quando ainda no utero da femea, podendo então ser encontradas com o aspecto da fig. 8, que não permitte bôa visão dos detalhes por ter sido esse material, por engano, fixado em formol puro.

LARVAS DO 2.º ESTADIO

Fig. 8

São encontradas na cavidade geral do hospedeiro; obedecem á mesma organisação geral que as larvas do 1.º estadio, sendo apenas maiores e apresentando um esboço genital mais alongado, na mesma situação relativa.

Comprimento:	0,41	0,44	0,48
Espessura:	0,022	0,025	0,022
Compr. do esophago:	0,110	0,108	0,108
Diam. do bulbo:	0,015	0,013	0,001
Espess. do bulbo anterior: . .	0,004	0,006	0,006
Annel nervoso:	0,076	0,080	0,079
Compr. da cauda:	0,080	0,080	0,080
Compr. do recto:	0,023	0,027	0,036

As larvas do 2.º estadio effectuam a 2.ª ecdyse, conservando-se encerradas dentro do antigo revestimento, constituindo assim as larvas do 3.º estadio, «infestantes» ou «encystadas», as formas de resistencia do helmintho, que não morrem pelo dessecamento e são portanto capazes de infestar novos exemplares do coleoptero hospedeiro. Conservam a mesma organisação geral, embora com attenuação do caracter rhabditoide do esophago.

LARVAS DO 3.º ESTADIO

Figs. 9 e 10

Quando em condições normaes, movem-se livremente no interior de seu duplo revestimento, occupando praticamente todo o espaço deixado pela 1.ª pelle (fig. 9). Dessecadas, entretanto, retraem-se muito no interior de seu envoltorio externo, ficando bastante encarquilhadas (fig. 10). Tomamos as seguintes medidas de larvas dessecadas e de uma normal:

Compr. da 1.ª pelle: .	0,46	0,48	0,50	0,50	0,47
Compr. da larva: . . .	0,35	0,41	0,41	0,41	0,46
Compr. do esophago: .	0,106	0,115	0,98	0,106	0,125
Espessura:	0,016	0,016	0,016	0,016	0,016

Este typo de larvas é encontrado na cavidade geral do hospedeiro, sendo postas em liberdade pela morte, seguida de decomposição delle.

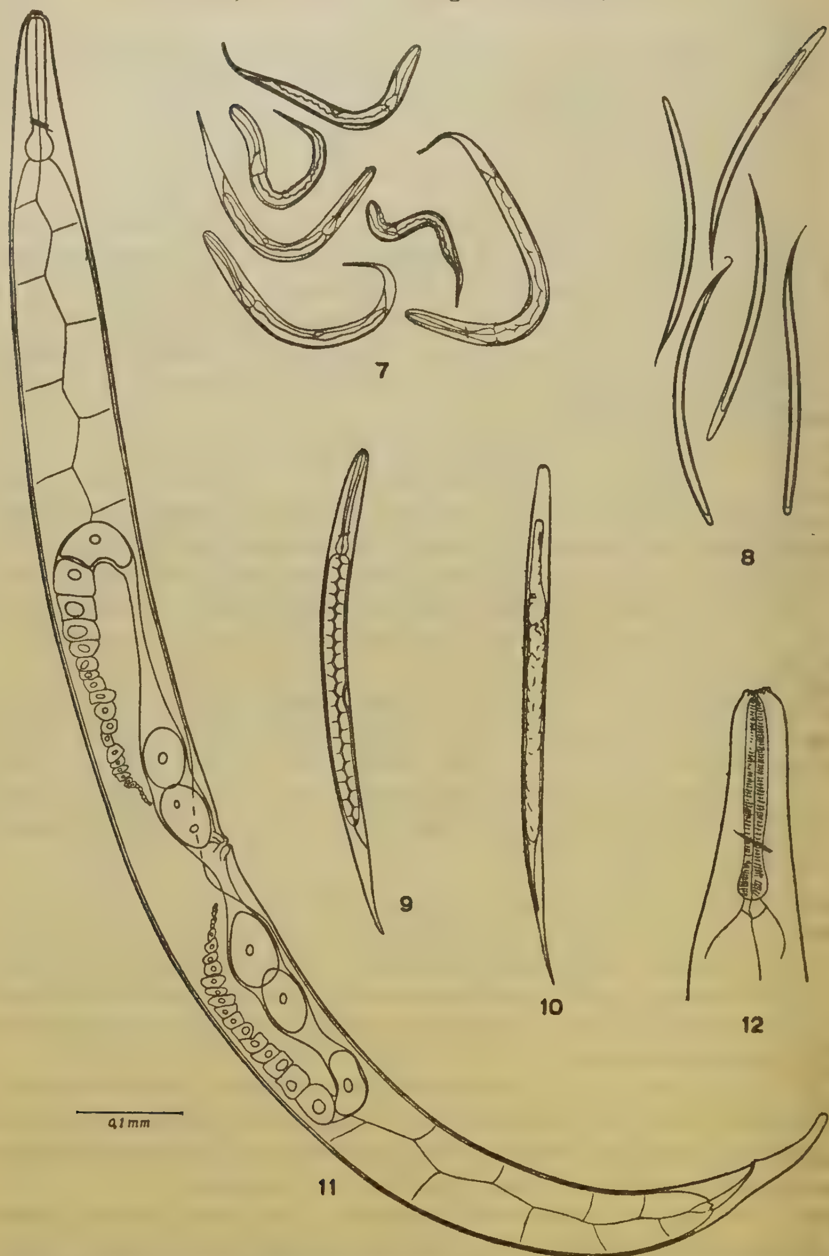
FORMAS ENCONTRADAS NAS INFESTAÇÕES EXPERIMENTAES

Figs. 11 e 12

O estudo das formas encontradas em infestações naturaes evidenciou tratar-se de um nematoide cujas femeas são *viviparas* e cujas larvas interrompem sua evolução num estadio encystado, que denominamos *larvas infestantes*.

Por outro lado, ao referirmos mais adiante os resultados de infestações experimentaes precocemente examinadas, assignalaremos que as femeas obtidas são *oviparas,* embora obedeçam á mesma organisação geral das formas já estudadas nas infestações naturaes.

Ademais, as larvas nascidas dos ovos postos pelas femeas obtidas experimentalmente, não deram nunca *larvas infestantes* e, pelo contrario, continuaram sua evolução transformando-se em machos e femeas iguaes aos encontrados nas infestações naturaes, sendo estas femeas novamente viviparas e com endotokia matricida, como o material original.



Rhabditis hambletoni n. sp. (infestação natural). Fig. 7 — Larvas do 1.º estadio. Fig. 8 — Larvas do 2.º estadio. Fig. 9 — Larva do 3.º estadio, normal. Fig. 10 — Larva do 3.º estadio, dessecada. Formas obtidas experimentalmente: Fig. 11 — Femea adulta. Fig. 12 — Detalhe da extremidade anterior.

Estes factos orientaram nossa attenção para um melhor estudo das formas obtidas experimentalmente, sendo então verificado que, embora com a mesma organisação fundamental, essas femeas apresentavam differenças morphologicas que permittiam distinguil-as das já estudadas.

As figuras 11 e 12 mostram, uma, a organisação geral das femeas obtidas a partir das larvas infestantes, outra, um detalhe da extremidade anterior dellas.

Como as figuras são bastante elucidativas, dispensamo-nos de descrever estas formas, chamando apenas a attenção para duas differenças fundamentaes por ellas apresentadas: a) presença de 6 labios nitidos ao redor da bocca; b) oviparidade.

Como já vimos, as femeas encontradas naturalmente tinham bocca simples e eram viviparas com endotokia matricida, o que nos permitte distinguil-as nitidamente.

Entretanto, essas differenças são de tal ordem, que suppuzemos a principio estar trabalhando com 2 especies differentes.

Esclareceram essas duvidas os resultados das infestações experimentaes, revelando a conversão facil de um typo morphologico no outro.

Facto interessante é a inexistencia de «larvas infestantes» no decorrer do apparecimento destas femeas. Infelizmente, não tivemos opportunidade de fazer um estudo morphologico das larvas que conduzem a estas femeas, para o que aguardamos nova occasião de encontrar este material.

Outro facto que não tivemos opportunidade de esclarecer foi o da possivel existencia de machos na geração obtida experimentalmente; não encontramos nenhum, mas como, no momento, nossa attenção não estivesse especialmente orientada para esse aspecto da questão, nada podemos affirmar de positivo.

Esperamos obter mais material afim de esclarecer esta questão, principalmente com a realização dos estudos cytologicos necessarios para, caso se confirme a ausencia de machos, podermos optar com segurança entre as alternativas de hermaphroditismo ou de parthenogenese.

DADOS ECOLOGICOS SOBRE "R. HAMBLETONI"

Já deixamos assignalado o facto de ter sido este nema encontrado, até o presente, apenas em brócas mortas. Emquanto não tivemos a opportunidade de estudar exemplares machos, suppuzemos ser este nema um parasito da «bróca do algodoeiro», e possivelmente um inimigo biologico dessa seria praga de nossa já importante cultura. Entretanto, o encontro dos machos, permittindo com toda a segurança e collocação de nosso helmintho na familia *Rhabditidae,* veiu

arrefecer nossas esperanças, pois este grupo não se notabiliza de modo algum pelo poder pathogenico de seus componentes, que são antes saprophytas, raramente attingindo as fronteiras do authentico parasitismo.

Realmente, os poucos dados que conseguimos obter sobre a bionomia deste helmintho são de molde a nos levar a considerar *R. hambletoni* mais como semiparasito do que como parasito.

EXPERIENCIAS RELATIVAS AO SAPROPHYTISMO

1.º) Tentativas de cultura do nema sobre cadaveres (larvas decapitadas) da broca do algodoeiro collocados em placas de agar a 2 % (não nutritivo). — As larvas infestantes permaneceram sem evoluir, por algumas semanas, ao passo que o cadaver da broca era completamente invadido por bacterias e cogumellos saprophytas. Foram feitas tentativas com material immerso em agua, afim de difficultar o desenvolvimento dos cogumellos, tambem com resultado negativo. Experiencias nas quaes os cadaveres eram misturados com a serragem retirada dos canaes escavados no pé do algodoeiro pela broca, tambem deram resultado negativo.

2.º) Tentativas de cultura do nema sobre cadaveres de larvas de dipteros (larvas decapitadas de *Musca domestica* L.), tambem sobre agar — Repetidas todas condições anteriores de experiencia, novamente com resultados negativos.

Verificada a inexistencia de um saprophytismo puro e simples, procuramos verificar se, possivelmente, as galerias escavadas pela bróca no pé do algodoeiro poderiam constituir um ambiente especial, propicio ao desenvolvimento do nematoide e no qual, portanto, fosse possivel demonstrar seu ainda possivel saprophytismo.

3.º) Tentativas de cultura do nema sobre blocos de clara de ovo coagulados por cocção. Tambem com resultados negativos.

4.º) Tentativas de cultura em pedaços de pé de algodoeiro.

Tomando pedaços de caule e raiz de algodoeiros broqueados, eram elles fendidos longitudinalmente e fechados novamente, depois de se ter posto na galeria o meio de cultura acompanhado de larvas infestantes. Os fragmentos eram guardados em camara humida.

As experiencias feitas com cadaveres de larvas de moscas e com blocos de ovalbumina coagulada deram resultado negativo, havendo sobrevida das larvas infestantes por mais de 10 dias, sem mostrarem o menor signal de desenvolvimento ulterior.

Repetidas as mesmas verificações com larvas decapitadas da broca do algodoeiro, nas mesmas condições de experiencia, em 9-IV-1936, obtivemos o seguinte resultado:

em 15-IV — Em cadaver de nympha: 8 femeas adultas, *oviparas*, grande numero de ovos e larvas em varios estadios de desenvolvimento, na cavidade geral da broca; *ausencia* de larvas infestantes.

em 15-IV — Em 1 cadaver de larva: negativo.

em 17-IV — » 3 cadaveres de larva: »

em 17-IV — Em 1 cadaver de larva: *presença de numerosas* larvas infestantes do nematoide; *ausencia* de quaesquer outros estadios evolutivos.

Portanto, podemos concluir que, a partir de larvas infestantes do nematoide, é possivel fazer sua cultura em cadaveres de brócas localizadas no ecotopo particular constituido pelas galerias escavadas pela propria bróca no pé do algodoeiro.

Nas outras condições de experiencia só houve resultados negativos.

Por conseguinte, temos que reconhecer provisoriamente que nosso nema se comporta sem duvida mais como saprophyta que como parasita, embora se tenha que reconhecer o caracter bastante especial desse saprophytismo, que parece estar situado bem nas fronteiras do parasitismo.

EXPERIENCIAS RELATIVAS AO PARASITISMO

5.º) Tentativas para cultivar o nema em brocas vivas, em placas de agar não nutritivo. — Larvas da broca bem desenvolvidas foram mantidas por alguns dias sobre agar não nutritivo, em contacto com larvas infestantes do nematoide, não só não se infestando, como transformando-se mesmo em pupas.

6.º) Tentativas para cultivar o nema em brocas vivas, nas galerias dos pés de algodoeiro. Em 9-IV-1936, larvas novas e bem desenvolvidas da broca foram collocadas nas mesmas condições da experiencia n.º 4, com os seguintes resultados:

Em 15-IV — 1 larva nova, viva, não infestada.
» » » — 1 » » morta, contendo uma femea adulta do nema, *ovipara,* e varios ovos embryonados e larvas situadas na cavidade geral da broca.
Em 15-IV — 2 larvas bem desenvolvidas, vivas, não infestadas.
» » » — 1 larva » » morta, contendo diversas femeas em differentes graus de maturação sexual, desde algumas immaturas até outras com o utero cheio de ovos; na cavidade geral da broca, ovos larvados e ausencia de larvas.

Essas experiencias não nos permittem concluir que o nema da bróca do algodoeiro seja um parasito authentico, pois que as larvas encontradas vivas no fim da experiencia não se encontravam parasitadas, ao passo que as larvas parasitadas se apresentavam mortas.

A não ser que quizessemos suppor que o nema fosse um parasito extremamente lethal para a bróca, hypothese que não encontra base nas outras experiencias e observações realizadas, temos que concluir pela alternativa de que as larvas infestantes do nema só conseguiram installar-se nas brócas que morreram accidentalmente ou que, pelo menos, apresentaram accentuada diminuição de vitalidade. Esta conclusão é amplamente apoiada pelos resultados da 4.ª experiencia.

Afim de confirmar este ponto de vista, repetimos as experiencias em escala mais larga, installando mais 42 larvas e nymphas, acompanhadas de larvas infestantes do nema, no interior de pedaços de caule de algodão, não nas galerias naturaes, das quaes não tinhamos mais provisão, porém em excavações feitas artificialmente; os resultados foram todos negativos.

Outra questão que nos preoccupou foi a de determinar as localisações do nema nas galerias escavadas pela bróca no caule e raiz do algodoeiro. O exame systematico do material retirado das galerias nunca revelou a presença de qualquer phase evolutiva do nema. Como este facto pudesse decorrer, já da raridade do nema no material em questão, já de possiveis difficuldades em distinguir as larvas do nema em meio dos restos de tecidos vegetaes broqueados, experimentamos a seguinte technica, que nos pareceu poder ser bastante sensivel para a detecção das larvas infestantes do nema:

Tomando, como já foi indicado, segmentos de caule e raiz, foram nelles collocadas 29 larvas, com esmagamento previo da cabeça e sem o accrescimo de larvas infestantes, na esperança de que larvas infestantes do nema, possivelmente existentes nas galerias, pudessem installar-se nas larvas mortas. Das 29 larvas usadas, apenas o cadaver de 1 larva se apresentou infestado.

Este methodo de pesquiza do nematoide veiu revelar que elle é realmente raro, embora o pequeno numero de experiencias ainda não nos permitta estabelecer porcentagens de frequencia, o que esperamos fazer opportunamente.

CYCLO EVOLUTIVO DE "RHABDITIS HAMBLETONI"

De accordo com os dados até agora referidos, podemos estabelecer a seguinte tentativa de interpretação do cyclo evolutivo deste nematoide, a partir das «larvas infestantes»:

1) o cadaver da broca, ao se decompor, põe em liberdade as «larvas infestantes»;
2) as larvas infestantes», encontrando uma broca morta ou possivelmente agonizante, invadem-na, transformam-se nas femeas oviparas e possuidoras de labios buccaes;
3) as femeas oviparas põem ovos, dos quaes nascem larvas, capazes de evoluir sem se deter no estadio de «larvas infestante», dando a geração de machos e femeas sem labios que são encontradas com grande frequencia nas brócas infestadas naturalmente;
4) as femeas viviparas, com endotokia matricida, põem em liberdade, apoz sua morte, larvas que interrompem sua evolução no estadio de «larvas infestantes».

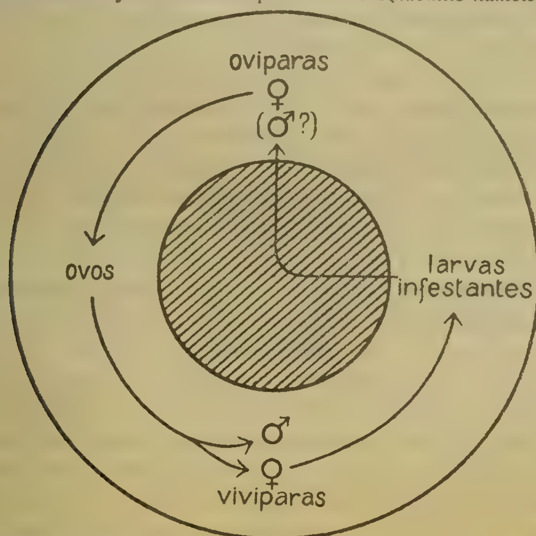
Outro aspecto interessante no comportamento deste nematoide seria investigar as exigencias ecologicas, comparativamente dos dois differentes typos alternantes de adultos, ou melhor, das larvas que conduzem a esses adultos.

Já verificamos que as «larvas infestantes» (formadoras de adultos com labios, sendo as femeas oviparas e machos desconhecidos) apresentam um typo de saprophytismo com exigencias muito particulares, pois, em nossas experiencias, só foram capazes de se installar em cadaveres de brócas no ecotopo especial constituido pelas galerias escavadas pela bróca no pé de algodoeiro.

Por outro lado, os ovos dessas femeas dão larvas capazes de evoluir mesmo em cadaveres de bróca completamente estraçalhados, em placas de Petri, recobertas com pequena camada de agua.

Temos portanto a impressão de que esta segunda geração do cyclo evolutivo do nema parece menos exigente que as «larvas infestantes»; infelizmente não tivemos opportunidade de realizar experiencias concludentes a este respeito.

Schema do cyclo evolutivo provavel de *Rhabditis hambletoni*



Disco escuro central = phase de vida livre, no meio exterior.
Annel claro peripherico = phases no cadaver do hospedeiro.

DISCUSSÃO

A biologia deste nematoide offerece dois aspectos diversos: a) suas relações ecologicas com outros nematoides habitantes de insectos; b) relações de seu cyclo evolutivo com os de outros nematoides.

Tomaremos como base a excellente revisão do assumpto feita por Bovien, 1937.

a) Do ponto de vista ecologico, verificamos que Bovien distinguiu os *Anguillulidae* habitantes de insectos em quatro grupos:

1) Associação symbiotica; especies que só existem nos ecotopos das brocas de madeira ou no dos ninhos de formigas e termitas; apresentam uma larva resistente («dauerlarve»), que pode ser carregada pelo insecto ou mesmo invadir seu organismo.

2) Especies que occorrem nas substancias organicas em decomposição, com larvas capazes de adherir ao corpo do insecto ou mesmo invadir sua cavidade geral.

3) Parasitos da cavidade do corpo de insectos, onde se reproduzem.

4) Especies que combinam propriedades saprozoicas e parasitas, podendo ser cultivadas em insectos mortos e meios artificiaes.

Como *Rh. hambletoni* não se multiplica a não ser no organismo da bróca, teriamos que incluil-o no 3.º grupo de BOVIEN. Entretanto, não poderia permanecer nelle, porque seus componentes são todos parasitos authenticos, ao passo que nosso nema não se revelou capaz de se installar em uma bróca normal.

Por outro lado, sua inhabilidade para exercer um verdadeiro parasitismo poderia levar-nos a tentar sua inclusão no quarto grupo, isto é, daquelles que combinam propriedades parasitas e saprozoicas; entretanto, o facto de não se deixar cultivar nas condições de authentico saprophytismo, em opposição ao que acontece com as especies já estudadas do genero *Neoaplectana* Steiner, impede sua collocação neste grupo.

Parece-nos que, na via que conduz do saprophytismo ao parasitismo, *Rh. hambletoni* deve occupar uma situação intermediaria: de um lado, os nematoides verdadeiramente saprophytas, mas capazes de invadir um organismo cuja vitalidade esteja em fallencia, como foi demonstrado para *Neoaplectana* e, de outro, os nematoides parasitos, isto é, incapazes de se reproduzirem normalmente no meio exterior (excepto as possiveis gerações de vida livre, parte integrante do cyclo evolutivo), habeis para invadir o organismo de hospedeiros sadios, nelle se installarem, e só nelle serem capazes de preproduzir-se.

b) Do ponto de vista de seu cyclo evolutivo, *Rh. hambletoni* offerece tambem particularidades interessantes.

Temos a impressão, embora ainda nos faltem dados indiscutiveis, de que este nematoide representa mais um caso de heterogonia entre os Anguillulideos. Realmente, a uma geração de sexos separados, desprovida de labios, de femeas viviparas, segue-se outra geração, da qual não foram vistos machos, cujas femeas possuem labios e são oviparas, não tendo nós entretanto elementos para decidir sobre a significação exacta dessa apparente falta de machos.

Casos semelhantes a estes são os que occorrem com *Atractis dactyluris* Rud., *Subuluroidea,* parasito de tartarugas estudado por MACÉ em 1887, e possivelmente o observado por SEURAT em *Tachygonetria vivipara* WEDL, *Oxyuroidea,* parasito de lagartos.

Os casos de heterogonia em nematoides são bem conhecidos: no genero *Strongyloides* GRASSI, 1879, ha a alternancia de duas phases

com sexos separados morphologicamente differentes, uma parasita, cujas femeas podem, por fecundação, dar descendentes de vida livre com sexos separados conforme observação de FAUST, ou então, possivelmente por parthenogenese, directamente larvas infestantes que sáem para o meio exterior; no genero *Rhabdias* STILES et HASSAL, 1906, formas parasitas phenotypicamente femeas, na realidade hermaphroditas proterogynicas, dão geração de vida livre com sexos separados, o que foi muito bem estudado recentemente por DREYFUS em *Rh. fülleborni* TRAV. (ignora-se o que acontece nas especies de *Rhabdias* cujas formas parasitas geram directamente só larvas infestantes).

Outro exemplo recente de heterogonia é encontrado no *Anguillulinidae* (BAYLIS & DAUBNEY, 1926) PEREIRA, 1931 *Heterotylenchus aberrans* BOVIEN, 1937, muito bem estudado por BOVIEN.

Evidentemente, o comportamento de *Rh. hambletoni* se approxima extremamente do apresentado por *Atractis dactyluris, Tachygonetria vivipara* e *Heterotylenchus aberrans,* embora estas especies todas não tenham sido ainda estudadas do ponto de vista cytologico, unico processo de esclarecer devidamente os detalhes de suas manifestações sexuaes.

CONCLUSÕES

1) E' descripta uma nova especie de nematoide semiparasito de *Gasterocercodes brasiliensis* (bróca do algodoeiro), provisoriamente collocada no genero *Rhabditis* DUJARDIM, 1845, sob o nome de *Rh. hambletoni* n. sp..

2) Não é cultivavel em cadaveres de dipteros, albumina ou agar.

3) Experimentalmente, este nematoide só invade brócas de vitalidade compromettida, em cujos cadaveres é cultivavel.

4) Experimentalmente, só se revelou capaz de ser cultivado em cadaveres de brócas, no ecotopo constituido pelos tuneis onde vivem as brócas no algodoeiro.

5) E' um helmintho extremamente raro.

6) Seu cyclo evolutivo é heterogonico, apresentando: a) — «larvas infestantes», capazes de invadir o organismo de uma bróca de vitalidade diminuida, onde se transformam em femeas possuidoras de labios peribuccaes, oviparas; não foram vistos machos nesta geração, facto interessante mas que requer confirmação exacta e principalmente estudos cytologicos para ser convenientemente esclarecido; b) — as femeas viviparas põem ovos, dos quaes nascem larvas que originam uma geração de machos e femeas desprovidos de labios, sendo as femeas viviparas; c) — as femeas viviparas, por endotokia matricida, libertam larvas no 2.º estadio evolutivo, que se transformam em «larvas

infestantes»; d) — as «larvas infestantes» são libertadas pela decomposição do hospedeiro, podendo invadir novas brócas de vitalidade diminuida, recomeçando o cyclo evolutivo.

7) Este nema parece não ter importancia economica.

ABSTRACT

The conclusions of this paper are as follows:

1) A new species of nema semi-parasitic on larvae from Gasterocercodes brasiliensis (cotton borer) is described and tentatively placed in the genus Rhabditis DUJARDIN, *1845: Rhabditis hambletoni n. sp.*

2) This nema cannot be reared either on dead larvae of diptera or on egg-albumen or agar.

3) Experimentally, it invades only those larvae of the borer which present reduced vitality, and is able to live on their decaying bodies.

4) Experimentally, this nema is able to invade the borer only in the ecotope constituted by the tunnels made by the borer in the cotton-plant.

5) It is extremely rare.

6) The life-cycle is heterogonic, as follows: a) the «infective larvae» penetrate the body of the borer, and are transformed into viviparous lip-exhibiting females; no males were seen in this phase, but as no cytological studies were made, no exact conclusion can be drawn from this fact; b) the oviparous females lay eggs, which give rise to males and females with a non labiated bucal aperture; these females are viviparous; c) the viviparous females, by «endotokie matricide», liberate larvae in the second stage, that change into «infective larvae»; d) the «infective larvae» are freed by the decaying body of the borer and may behave as in a).

7) This nema is apparently devoid of economic value.

BIBLIOGRAPHIA

BOVIEN, P. — 1937 — Some types of association between nematodes and insects. «Vidensk. Meddelelser fra Dansk Naturhistorisk Forening», 101, 1-114.

DREYFUS, A. — 1937 — Contribuição para o estudo do cyclo chromosomico e da determinação do sexo de *Rhabdias fülleborni* TRAV. 1926. These da Faculdade de Sciencias de S. Paulo, Brasil.

FAUST, E. C. — 1933 — Experimental Studies on Human and Primate Species of *Strongyloides* in the Experimental Host. «Am. Jl. of Hygiene», 18, 1.

MACÈ — 1887 — L'heterogonie de *l'Ascaris dactylurus*. «C. R. Soc. Biol.», 104.

SEURAT, L. — 1913 — Sur un cas de poecylogenie ches un Oxyure. «C. R. Soc. Biol.», 74.

ZWALUWENBURG, R. VAN — 1928 — The interrelationships of insects and roundworms. «Bull. Exp. St. Hawaian Sugar Planter's Ass. Entom.», Ser. 20. Honululu.

———o———

Vol. 8 — Art. 17 Dezembro de 1937

CONTRIBUIÇÃO PARA O CONHECIMENTO DOS MEMBRACIDEOS NEOTROPICOS (II)

POR

J. P. da Fonseca

Trabalho do Instituto Biologico de S. Paulo

Com 8 figuras no texto

Em proseguimento aos estudos dos Membracideos Neotropicos, e sobretudo do Brasil, trato, no presente trabalho, das especies do genero *Kronides,* o qual se acha confinado á região meridional da America do Sul, entre 15° e 35° de latitude Sul.

O genero *Kronides,* foi estabelecido por KIRKALDY, em 1904, em substituição ao genero *Argante,* applicado por STAL, o qual, em obediencia ás regras de nomenclatura zoologica, não podia prevalecer, porquanto se achava preoccupado para designar um grupo de especies do genero *Dicerca,* da familia *Buprestidae, Coleoptera.*

Qualquer contribuição para melhor conhecermos qualquer grupo de insectos *Homoptera* e *Hemiptera* será opportuna, porquanto se trata de insectos altamente nocivos, todos suceptiveis de transmittir agentes pathogenicos.

Genero *Kronides* KIRKALDY

Argante STAL, 1867, Öfv. Vet. - Ak. Forh. p. 558 (preoccupado)
Argante BUTLER, 1877, Cist. Ent. II p. 350
Argante BERG, 1884, Hemip. Arg. p. 154
Kronides KIRKALDY, 1904, Ent. XXXVII, p. 279
Argante SCHMIDT, 1911, Stett. Ent. Zeit., LXXII. p. 272
Argante GODING, 1914, Ent. News, XXV. p. 402
Kronides FUNKHOUSER, 1927, Gen. Cat. Hem., Fasc. I, Membr., p. 148
Kronides GODING, 1927, Trans. Am. Ent. Soc., LV, p. 227

Genotypo: *Smilia incumbens* GERMAR, 1835.

Caracteres do genero: Appendice pronotal anterior dirigido para frente, ligeiramente curvado para baixo, percorrido, de cada lado, por uma carena saliente, que parte da extremidade apical do appendice e termina no meio do dorso do pronoto. Corpo glabro. Cabeça quadrangular, com a margem apical arredondada; ocellos proximos aos olhos.

Chave para as especies do genero Kronides KIRKALDY

1 (4) Processo pronotal anterior alargado.
2 (3) Processo pronotal anterior constricto na secção mediana . . . . . . *cochleata* (SCHMIDT)
3 (2) Processo pronotal anterior não constricto na secção mediana . . . . . *ogloblini* FONS.

4 (1) Processo pronotal anterior estreito, afilado para a extremidade apical
5 (6) Processo pronotal anterior alongado, quasi excedendo em comprimento a largura da cabeça, levemente curvado para baixo . . *incumbens* (GERMAR)
6 (5) Processo pronotal anterior curto, não attingindo em comprimento a largura da cabeça, fortemente curvado para baixo. . . . *brevicornis* n. sp.

1. *Kronides incumbens* (GERMAR)

Figs. 1 e 2

Smilia incumbens GERMAR, 1835, Rev. Silb. Ent. III. p. 239.
Aconophora incumbens FAIRMAIRE, 1846, Rev. Membr. Ann. Soc. Ent. Fr., IV, p. 295; WALKER, 1851, List. Hom. B. M., II, p. 537; DOHRN, 1859, Cat. Hem., p. 78.
Argante incumbens STAL, 1867, Öfv. Vet. - Ak. Forh. p. 558; BUTLER, 1877, Cist. Ent. II, p. 350; BERG, 1883, Ann. Soc. Cient. Arg. XVI, p. 292; BERG, 1884, Hemipt. Arg. p. 154; SCHMIDT, 1911, Stett. Ent. Zeit. LXXII, p. 272; GODING, 1914, Ent. News, XXV, p. 402.
Kronides incumbens FUNKHOUSER, 1927, Gen. Cat. Hem., Fasc. I, Membr., p. 148; GODING, 1927, Trans. Am. Ent. Soc., LV. p. 227.

♀ Colorido geral fusco, levemente acastanhado, as extremidades dos tegmina castanho-amarelladas, pernas castanho-escuras.

Cabeça tão larga quanto longa, fracamente luzidia, glabra, com punctuação grossa e dispersa. Margem superior levemente arqueada, margem apical arredondada e marginada. Expansões genaes com a margem externa levemente sinuosa, terminadas na extremidade apical em angulo obtuso. Clypeo mais largo do que longo, trianguliforme, com a margem apical arredondada, levemente concava, marginada e com os cantos lateraes terminados em angulo agudo. Ocellos amarello-pallidos, luzidios, equidistantes entre si e dos olhos, mais proximos da margem superior da cabeça. Olhos globuliformes, de côr pardo-amarellada.

Pronoto convexo, glabro, luzidio, com punctuação densa e grossa, alargado na região supra-humeral, gradualmente afilado para a região apical, a qual termina em ponta aguda. Região anterior do pronoto provida de um processo relativamente longo, dirigido para frente, ligeiramente curvado para baixo, afilado para a extremidade apical e terminado em ponta obtusa. Ao longo do processo pronotal notam-se quatro carenas longitudinaes, uma superior e duas lateraes, estas partindo por detraz dos angulos humeraes, mais desenvolvidas e cortantes; e outra inferior, menos saliente. Além dessas carenas, observam-se ainda, no lado inferior do processo pronotal, varias pequenas carenas, mais curtas e menos desenvolvidas. Linha mediana elevada em carena cortante sobre o terço apical do processo pronotal posterior. Processo latero-anterior do pronoto [1] espatuliforme, dilatado na parte inferior, com a margem arredondada e voltada para cima. Metopideo com leve depressão transversal.

Angulos humeraes arredondados, levemente salientes.

Tegmina castanho-escuros, opacos, densamente punctuados na região dorsal, ferrugineo-claros, na extremidade apical ligeiramente translucidos.

Azas cinero-claras, hyalinas, com as nervuras pardo-escuras.

Pleuras e abdomen fusco-acastanhados.

Pernas castanho-avermelhadas.

♀ e ♂ semelhantes.

---

(1) Com esta denominação quero designar a região infra-lateral do pronoto, localisada entre os olhos e os cantos humeraes. Em taxonomia não existe um termo apropriado para assignalar esta parte do pronoto, a qual, em certos generos de *Membracideos*, varia muito de tamanho, forma e estructura.

Comprimento total, do apex do appendice pronotal anterior á extremidade dos tegmina, 8 mm.; do pronoto, 6 mm.; largura total do pronoto entre os angulos humeraes, $2\frac{1}{2}$ mm.

Habitat: Brasil — São Paulo, Goyaz, Rio Grande do Sul. Republica Argentina e Uruguay. 5 ♀♀ pertencentes á collecção do Museu Paulista, 1 ♀ na collecção do Instituto Biologico de São Paulo.

Planta hospedeira: *Eryngium aloifolium.*



Figs. 1 e 2 — *Kronides incumbens* (GERMAR) × 10 (A. Federman phot.)

2. *Kronides cochleata* (SCHMIDT)

Figs. 3 e 4

Argante cochleata SCHMIDT, 1911, Stett. Ent. Zeit. LXXII, p. 273.
Argante tremolares GODING, 1914, Ent. News, XXV, p. 402.
Kronides cochleata FUNKHOUSER, 1927, Gen. Cat. Hem., Fasc. I. p. 148; GODING, 1929, The Membr. S. Am. and the Ant., IV. Trans. Am. Ent. Soc., LV, p. 226.

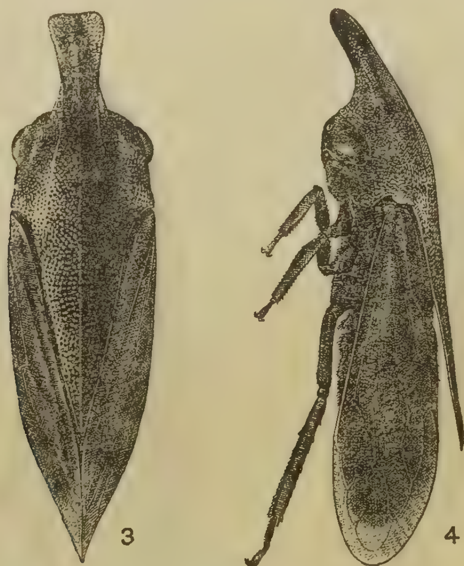
♀ Negro uniforme, tarsos e extremidade dos tegmina castanho-claros.

Cabeça transversa, ligeiramente convexa na região frontal, mais larga do que longa, luzidia, grossa e dispersamente punctuada, provida de fraca pillosidade sericea, dispersa e brilhante.

Expansões genaes levemente deprimidas, com sensiveis reentrancias na margem latero-inferior; extremidade apical terminada em ponta arredondada.

Clypeo trianguliforme, mais longo do que largo, grossa e dispersamente punctuado, terminado na região apical em um processo desenvolvido pon-

teagudo, glabro e luzidio; margem basal repanda e levemente marginada; margem inferior direita, marginada, seguida internamente de um sulco transversal abrangendo as duas extremidades lateraes do clypeo. Ocellos castanho-escuros, circulares, luzidios, equidistantes entre si e dos olhos, mais approximados da margem superior da cabeça. Fronte ligeiramente deprimida no centro, com a sutura mediana assignalada por um sulco bem pronunciado. Margem superior da cabeça ligeiramente arqueada, marginada. Olhos relativamente grandes, proeminentes, globuliformes, com as corneas e fundo escuros.



Figs. 3 e 4 — *Kronides cochleata* (Schmidt) × 11 (J. F. Toledo del.)

P r o n o t o convexo, ligeiramente deprimido no lado superior, alargado na região suprahumeral, gradualmente afilado para a região apical, a qual termina em ponta aguçada. Toda a superficie do pronoto é glabra, liza, luzidia e provida de punctuação grossa e densamente agrupada. Processo pronotal anterior dilatado na metade anterior, concavo no lado superior, convexo no inferior. Extremidade apical terminada em ponta arredondada. Expansões lateraes dilatadas, mais altas do que a carena mediana e com as margens cortantes. Carena mediana, nos lados superior e inferior, saliente e cortante. Visto de perfil, o appendice cephalico apresenta-se levemente inclinado para baixo, com a linha de contorno direita na parte superior, levemente curva na parte inferior. Linha mediana elevada e cortante na extremidade apical do appendice pronotal posterior.

P r o c e s s o l a t e r o-a n t e r i o r do pronoto voltado para traz, quadranguliforme, terminado posteriormente em angulo obtuso e provido de uma carena longitudinal, localizada entre sua margem anterior e o angulo posterior.

A n g u l o s h u m e r a e s salientes, obtusos.

M a r g e m a n t e r i o r do pronoto arqueada e marginada. Metopideo levemente deprimido.

Tegmina negro-acastanhados, densamente punctuados na região dorsal e metade da margem costal; extremidade apical ferrugineo-clara, ligeiramente translucida.

Pleuras e abdomen preto-acastanhados, punctuados e providos de densa pillosidade fulvescente.

Pernas castanho-escuras, com tarsos castanho-claros.

♀ e ♂ semelhantes.

Comprimento total, do apex do appendice pronotal anterior á extremidade dos tegmina, 7 mm.; do pronoto, 6 mm.; largura total do pronoto entre os angulos humeraes, 3 mm.

Habitat: Brasil — Rio Grande do Sul; Rep. Argentina; Uruguay.

Planta hospedeira: *Eryngium* sp.

A presente especie approxima-se muito de *K. incumbens* (GERMAR). Differe, porem, desta, principalmente pelo pronoto, que se apresenta com o processo anterior dilatado na metade anterior, concavo no lado superior e convexo no inferior; as expansões lateraes são muito desenvolvidas e voltadas para cima. Processo latero-anterior do pronoto quadrangular, provido de uma carena longitudinal mediana e terminada na margem, posteriormente, em angulo obtuso.

3. *Kronides ogloblini* FONSECA

Figs. 5 e 6

Kronides ogloblini FONSECA, 1936, Arch. Inst. Biol. S. Paulo, V. 7, p. 161.

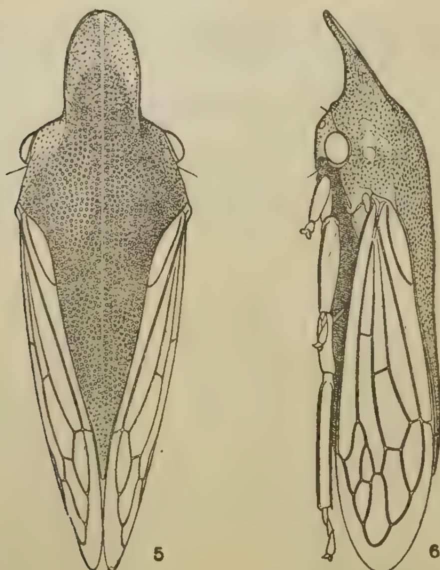
♀ Colorido geral castanho-escuro, uniforme, com a extremidade dos tegmina ferruginea-amarellada.

Cabeça mais larga do que longa, ligeiramente convexa na região frontal, fina e densamente punctuada, luzidia, provida de pillosidade curta e dispersa. Expansões genaes desenvolvidas, tão largas quanto o clypeo, ligeiramente arqueadas na margem externa e terminadas, posteriormente, em ponta arredondada. Clypeo de forma quadrangular, mais largo do que longo, glabro, liso e luzidio, rematado anteriormente em angulo obtuso, largamente marginado. Ocellos de formato perfeitamente espherico, côr de ambar-claro, luzidios, afastados entre si e mais proximos das expansões genaes. Olhos ligeiramente oblongos, pardo-escuros.

Pronoto convexo, densa e grossamente punctuado, glabro, luzidio, alargado na região suprahumeral, estreitado gradativamente para a parte posterior, onde termina em ponta extremamente afilada. Região anterior desenvolvida em um appendice dirigido para frente, ligeiramente inclinado para baixo, largo, espatulado, concavo na parte superior, convexo na inferior, com as margens lateraes levemente voltadas para cima, parallelas e direitas, extremidade apical em ponta arredondada e levemente retusa. Carena mediana ausente, simplesmente assignalada pela linha longitudinal, que se apresenta mais alargada no lado inferior do appendice pronotal. Flancos do pronoto, entre a base do appendice pronotal e os olhos, deprimidos e providos de pequena área calliginosa, plana, lisa e luzidia.

Angulos humeraes levemente salientes, arredondados.

Tegmina opacos, de côr castanho-escura, com o terço apical ferrugineo-claro, ligeiramente translucidos.



Figs. 5 e 6 — *Kronides ogloblini* FONSECA, × 10 (J. F. Toledo del.)

Azas hyalinas, com nervuras pardacentas.

Pleuras e lado ventral do corpo castanho-escuros, providos de pillosidade densa e flavescente.

Pernas castanho-escuras.

♂ assemelhando-se á ♀, sendo porém menor.

Comprimento total, do apex do appendice pronotal á extremidade dos tegmina, ♀ 10 mm.; ♂ 8 mm.; comprimento do pronoto, ♀ : 8 mm.; ♂: 6 mm.; largura entre os angulos humeraes, ♀ : 3 mm.; ♂: $2\frac{1}{2}$ mm.

Cotypos (2 ♀ ♀ e 3 ♂♂) na collecção do autor.

Habitat: Lorêto, Missiones, Republica Argentina.

Dr. A. OGLOBLIN, leg., em 16.V.936.

Planta hospedeira: *Eryngium* sp.

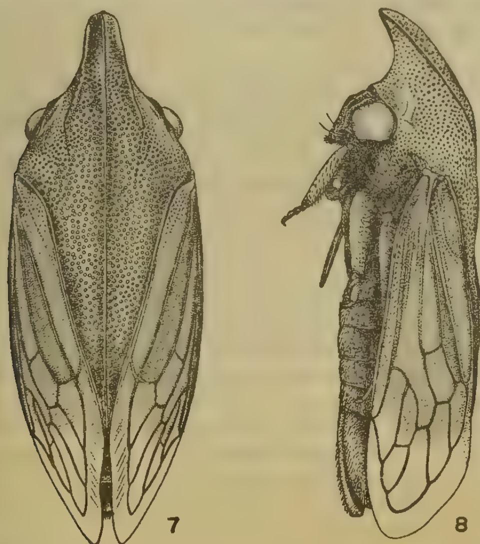
Esta especie se approxima de *K. cochleata* SCHMIDT, da qual se distingue pelo processo pronotal que tem a forma de espatula, destituido de carena longitudinal, e pelas margens lateraes, que são levemente inclinadas na porção anterior, bem como pela margem anterior do clypeo, que é largamente marginada.

4. *Kronides brevicornis* n. sp.

Figs. 7 e 8

♀ Colorido geral piceo-acastanhado, extremidade dos tegmina ferrugineo-amarellada, pernas castanho-escuras.

Cabeça curta, tão larga quanto longa, matte, com punctuação grossa e dispersa, provida de fraca pillosidade sericea e dispersa. Expansões genaes com a margem externa levemente levantada e ligeiramente sinuosa, a extremidade terminada em angulo obtuso, com bordo saliente. Ocellos amarello-claros, luzidios, de formato perfeitamente circular, levemente salientes, ligeiramente mais approximados da margem superior da cabeça do que entre si e das genas. Clypeo mais largo do que longo, com a margem apical arredondada e fortemente marginada, os cantos lateraes terminados em angulo agudo. Olhos globulosos, pardo-amarellados, vistos de frente apparentemente trianguliformes.



Figs. 7 e 8 — *Kronides brevicornis* n. sp. × 10
(C. R. Fischer del.)

Pronoto convexo, densa e grossamente punctuado, glabro, luzidio, ligeiramente alargado na região supra-humeral, estreitado gradativamente para a extremidade posterior, onde termina em ponta extremamente afilada. Processo anterior do pronoto relativamente pouco desenvolvido, curto, bruscamente afilado e curvado para baixo, provido de carenas salientes, cortantes e direitas. Linha mediana levemente assignalada na região dorsal entre os angulos humeraes, elevada em carena cortante no terço posterior do pronoto. Margens lateraes do processo pronotal posterior cortantes e levemente marginadas. Processo latero-anterior do pronoto estreito na região basal e alargado na extremidade inferior, com margem arredondada, cortante e levemente voltada para cima.

Angulos humeraes levemente salientes, arredondados.

Metopideo ligeiramente depresso.

Tegmina opacos, castanho-escuros, com a extremidade apical ferrugineo-clara, ligeiramente translucida.

Azas cinereo-claras, hyalinas, com as nervuras pardo-escuras.

Pleuras e partes ventraes do corpo castanho-escuras, escassa e finamente pubescentes.

Pernas castanho-escuras.

♀ e ♂ semelhantes.

Comprimento total, do apex do appendice pronotal á extremidade dos tegmina, 8 mm.; comprimento do pronoto, 6 mm.; largura do pronoto entre os angulos humeraes, 3 mm.

Cotypos (4 femeas) pertencentes á collecção do Museu Paulista, registrados sob os numeros 4964.

Habitat: Brasil — Campos do Jordão, Estado de São Paulo; H. Luederwaldt, leg.

Planta hospedeira: *Eryngium aloifolium.*

Esta especie é affim de *Kronides incumbens* (GERMAR), da qual se distingue pelo appendice anterior do pronoto, que é consideravelmente menor, abruptamente ponteagudo e curvado para baixo.

ABSTRACT

The present paper is a contribution to the knowledge of Neotropical Membracidae and deals with a new species.

BIBLIOGRAPHIA

BERG, C. — 1884 — Hemiptera Argentina. *Anales de la Sociedad Científica Argentina.* Buenos Ayres. **16**: 154.

1884 — Addenda et Emenda ad Hemiptera Argentina. Buenos Ayres, p. 154.

BUTLER, A. G. — 1887 — On various genera of the Homopterous family Membracidae with descriptions of new species. *Cistula Entomologica*, London, **2**: 350.

DORN, A. — 1859 — Catalogus Hemipterorum. Herausgegeben von dem *Entomologischen Verein zu Stettin,* p. 78.

FAIRMAIRE, L. — 1846 — Revue de la tribu des Membracides. Annales de la Soc. Ent. de France, Paris, **4**: 295.

FONSECA, J. P. — 1936 — Contribuição para o conhecimento dos Membracideos Neotropicos. Arch. do Inst. Biologico, S. Paulo. Brasil. **7**: 161.

FUNKHOUSER, W. D. — 1927 — General Catalogue of the Hemiptera, Membracidae. Northampton, Mass. U. S. A., Fasc. I, p. 148.

GODING, F. W. — 1914 — Catalogue of the Membracidae of Uruguay (Hemipt.-Homopt.). *Entomological News.* Philadelphia, U. S. A. **25**: 402.

GODING, F. W. — 1929 — The Membracidae of South America and the Antilles. Transactions American Entomological Society. Philadelphia, U. S. A. **55**: 227.

KIRKALDY, G. W. — Bibliographical and nomenclatorial notes on the Hemiptera, n.º 3. The Entomologist, London. **37**: 279.

SCHMIDT, E. — 1911 — Beitrag zur Kenntnis der Homopteren (Neue Gattungen und Arten). *Stettin. Entomolog. Zeitung*, **77**: 272.

STAL, C. — 1867 — Bidrag till Hemipterernas Systematik. *Öfversigt af Kongliga Svenska Vetenskaps-Akademiens Förhandlingar*, Stockholm, **24**: 558.

WALKER, F. — 1851 — List of specimens of Homopterous Insects in the collection of the British Museum. *Catalogue of the British Museum*, London, Part. II, p. 537.

O NOVO GENERO DIASPINEO "COSTALIMASPIS" COM TRES ESPECIES NOVAS (HOM. - COCCOIDEA)

POR

H. S. Lepage

Trabalho do Instituto Biologico de S. Paulo

Com 32 figuras no texto

Ha cerca de um anno, encontrei nas folhas de uma pitangueira *(Eugenia* sp.) do Jardim da Luz, duas especies de diaspineo, novas, que a principio julguei pertencentes ao genero *Gymnaspis*. Algum tempo depois, em uma excursão a Atibaia, encontrei, sobre uma planta silvestre, outra especie, proxima das duas precedentes. As tres especies em estudo pertencem ao grupo dos diaspineos cryptogenos, grupo ainda confuso, com seus generos sem limites bem definidos. Analysando bem os caracteres das tres especies em estudo, cheguei á conclusão de que ellas não poderiam ser annexadas a nenhum dos generos cryptogenos já existentes, razão pela qual resolvi incluil-as em o novo genero *Costalimaspis*, em homenagem ao grande Entomologista, Dr. A. M. da Costa Lima, meu prezado mestre e amigo.

COSTALIMASPIS n. gen.

Diaspideos providos de *two-barred* glandulas. Escudo da femea adulta de pequenas dimensões, formado exclusivamente pela pellicula da segunda forma larval, convexa, endurecida, de côr negra, com a exuvia larval, quando presente, de côr amarella clara, não havendo secrecção.

Quando fervidos, os escudos mantêm-se integros. Escudos masculinos alongados, claros, typo *Aspidiotus*, maiores que os femininos, com a exuvia, de côr amarella clara, em uma extremidade. Femea adulta reduzida, completamente encerrada na 2.ª pellicula larval, provida de pygidium sem formações bem definidas e sem discos circungenitaes. Femea do segundo estado, apresentando dois ou tres pares de lobulos bem definidos, o segundo duplicado e o terceiro triplicado ou ausente.

Este genero aproxima-se de *Gymnaspis*, do qual differe pela côr e dimensões das enxuvias larvaes, pela forma e dimensões do escudo masculino, etc. Emquanto *Gymnaspis* provêm da serie *Parlatoria*, *Costalimaspis* pertence, indubitavelmente, á serie *Diaspis*.

Genotypo: *Costalimaspis eugeniae* n. sp.

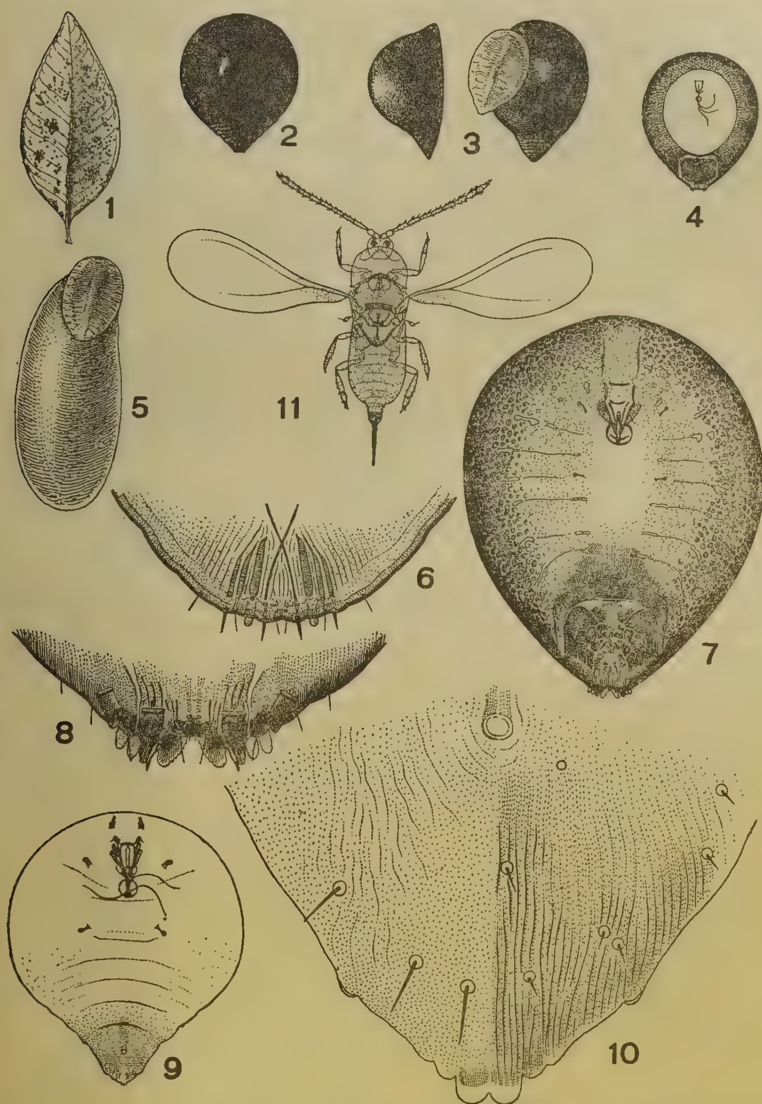
Costalimaspis eugeniae n. sp.

Escudo feminino de côr preta, brilhante, formado exclusivamente pela 2.ª pelle larval que envolve a femea adulta, não havendo secrecção. O escudo é de côr preta, convexo, apresentando uma pequena expansão posterior, que lhe

dá a apparencia de um capacete de aço. A exuvia larval, quando presente, é de côr amarella clara, encontra-se na parte central do escudo, perdendo-se na grande maioria dos exemplares bem desenvolvidos. Na face ventral, o escudo é de côr clara. Mede o escudo 0,42 a 0,50 mm: de comprimento, por 0,32 a 0,38 mm. de largura, por 0,18 a 0,22 mm. de altura. Fervidos na potassa, os escudos mantêm-se integros, sendo necessario fragmental-os para retirar-se a femea adulta do seu interior.

Femea adulta arredondada, muito reduzida em dimensões, de côr branca, apresentando antennas rudimentares representadas por dois pequenos tuberculos com pellos, geralmente em numero de quatro, dois grandes e dois pequenos. Estigmas tracheaes bem desenvolvidos, apresentando os anteriores um *spiracerore*. Pygidium muito rudimentar, ponteagudo, não apresenta formações perfeitamente definidas; nelle encontramos dois pseudolobulos medianos bem desenvolvidos, algumas vezes não perfeitamente symetricos, arredondados, com os lados internos convergentes e de margens lisas. Logo após os lobulos medianos segue-se o segundo par de lobulos ou pseudo-lobulos de forma mais ou menos semelhante á dos medianos, porém de menores dimensões, sendo bastante commum encontraram-se exemplares com os lobulos do segundo par completamente asymetricos. Após o segundo par de pseudo-lobulos, o pygidium não apresenta formação alguma. O anus é bem delineado e redondo. Na face dorsal e ventral do pygidium encontram-se espinhos glandulares conicos, bem desenvolvidos, em numero respectivamente de 10 e 6, numero esse que varia. Não ha discos circumgenitaes ou genacerores, e as glandulas tubulares são ausentes. Vagina bem desenvolvida. Anus situado entre a vagina e a extremidade do pygidium. Em quasi todos os exemplares examinados, adultos, encontrei duas larvas bem desenvolvidas no interior. São viviparas. A femea adulta, mede em média, 0,25 mm. de comprimento, por 0,20 mm. de largura. A femea do segundo estado larval é arredondada, apresentando o pygidium com formações bem definidas. O pygidium tem dois pares de lobulos. Os lobulos medianos são alongados, estreitos, convergentes, apresentando a face externa lisa arredondada, e a face interna serreada. Os lobulos do segundo par, são duplicados, isto é, apresentam uma incisão que os divide mais ou menos em dois, sendo um pouco mais alargado o mais proximo ao mediano; estes lobulos do segundo par são arredondados, com a face externa lisa e as faces do lado da incisão mediana serreados. O terceiro par de lobulos é ausente. Entre o primeiro e o segundo par de lobulos, existe uma placa simples, mais comprida que os lobulos. Entre o 1.º e 2.º par de lobulos e logo após o 2.º par encontramos as aberturas ou macroporos de 2 grandes *two-barred* glandulas. Na parte basal de cada lobulo mediano encontramos um longo espinho, quasi do mesmo comprimento dos lobulos. Na incisão que separa o 2.º par de lobulos em dois, encontramos tambem um espinho analogo ao da incisão mediana.

Escudo do macho alongado, de côr esbranquiçada, com a exuvia larval de côr amarella clara em uma das extremidades. Macho adulto bem desenvolvido, typo *Aspidiotus*. Os escudos masculinos medem 0,87 a 1,25 mm. de comprimento, por 0,21 de largura em média. As larvas são de côr branca, ligeiramente rosadas, de forma ellyptica, apresentando no pygidium um par de lobulos muito afastados, espatulados. Entre os lobulos existem 2 espinhos fortes bem desenvolvidos, havendo após os lobulos 2 espinhos identicos.



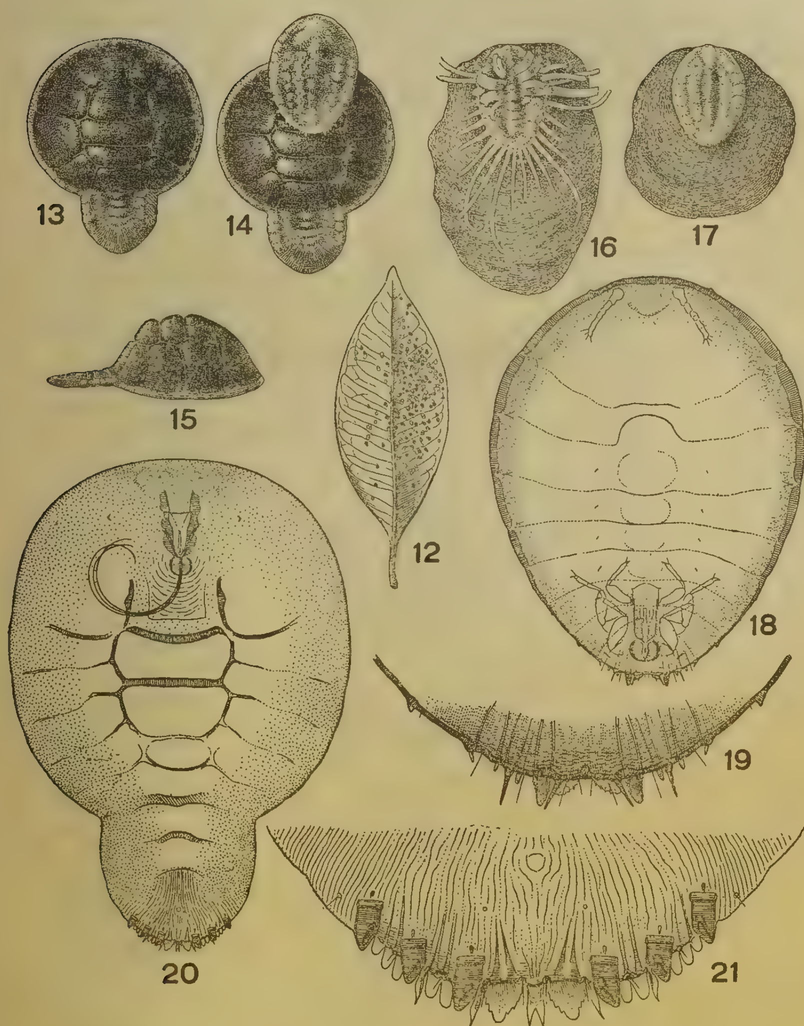
Costalimaspis eugeniae n. sp. - Fig. 1 — Folha de *Eugenia* sp. atacada, ca. 1,2 ×. Fig. 2 — Escudo feminino visto dorsalmente, augmentado. Fig. 3 — Escudo feminino visto de perfil, augm. Fig. 4 — Escudo feminino visto ventralmente, augm. Fig. 5 — Escudo masculino, augm. Fig. 6 — Extremidade posterior do abdomen da larva, × 350. Fig. 7 — Femea do 2.º estado, × 90. Fig. 8 — Pygidium da femea do 2.º estado, × 350. Fig. 9 — Femea adulta, augm. Fig. 10 — Pygidium da femea adulta, × 350. Fig. 11 — Macho adulto, muito augmentado. (J. F. Toledo, del.)

Hospedeiro: Encontrado em ambas as faces das folhas de pitangueira (*Eugenia* sp.) no Jardim da Luz em São Paulo, pelo autor, em 12 de Março de 1936.

Typos: Incorporados ás Collecções Entomologicas do Instituto Biologico de São Paulo, e do Instituto Oswaldo Cruz no Rio de Janeiro.

Costalimaspis cheloniformes n. sp.

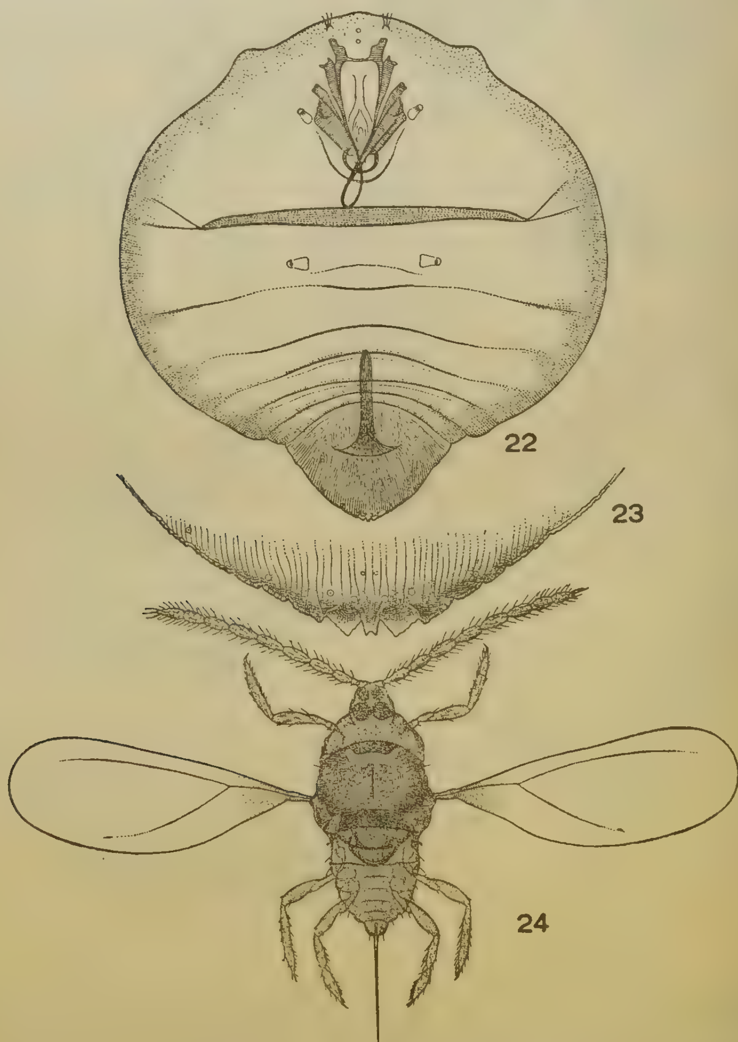
Escudo da femea adulta formado exclusivamente pela pelle da 2.ª forma larval, negra e endurecida, sem secrecção, com a exuvia larval, de côr amarella clara na extremidade anterior. O escudo é convexo, arredondado, apresentando uma expansão posterior; na sua superficie dorsal não é liso como em *E. eugeniae:* apresenta sulcos longitudinaes que o dividem em áreas polygonaes que lhe dão o aspecto de um microscopico chelonio. Estas áreas estão dispostas 9 a 10 em volta e tres centraes na parte mais convexa do escudo. Na parte posterior ha um prolongamento abdominal, de forma arredondada e côr menos chitinizada escura que o restante do escudo. A exuvia larval é de côr amarella clara, perde-se em grande numero de exemplares completamente desenvolvidos, ficando situada na parte anterior do escudo. Não ha secrecção no escudo. Escudo ventral de côr clara. Mede o escudo feminino 0,64 a 0,76 mm. de comprimento por 0,40 a 0,52 mm. de largura e por 0,32 mm. de altura. A exuvia larval mede em média 0,36 mm. de comprimento por 0,24 mm. de largura. Fervidos na potassa a 10 % os escudos mantêm-se integros, sendo necessario rompel-o para ser retirada a femea do seu interior. Femea adulta muito reduzida, completamente encerrada na 2.ª pellicula larval, de côr branca, arredondada, medindo em média 0,50 mm. de comprimento por 0,32 mm. de largura. Na parte cephalica apresenta a femea duas pequenas expansões lateraes. As antennas são representadas por dois pequenos tuberculos com pellos. Estigmas tracheaes bem desenvolvidos, havendo em cada um dos anteriores dois estigmacerores. Pygidium da femea adulta em forma arredondada sem formações bem definidas. Encontramos um par de pseudolobulos de forma triangular de margens serreadas separadas por uma larga placa bifida. Após esse par mediano de lobulos o pygidium apenas apresenta nas margens algumas denteações, 3 ou 4 de cada lado, pouco profundas. Encontramos 8 espinhos glandulares conicos bem desenvolvidos na margem do pygidium. Vulva bem desenvolvida. Não ha discos perivulvares ou genacerores e apparentemente não ha glandulas tubulares. Especie vivipara. A femea do 2.º estado larval é arredondada, com uma expansão posterior. O pygidium é arredondado e apresenta 3 pares de lobulos bem definidos. O par mediano é composto de lobulos de forma triangular, de vertice arredondado e lados denteados. Os lobulos do segundo par apresentam uma incisão que os divide mais ou menos em duas partes iguaes, ficando o lobulo perfeitamente duplicado. Cada um dos lobulos do terceiro par apresenta duas incisões que o dividem em tres partes, sendo a maior a mais proxima do mediano e a menor a mais afastada. Entre os lobulos medianos existe uma placa bifida, mais longa que o comprimento dos lobulos. Entre o lobulo mediano e o segundo par, e o 2.º e o terceiro par, existem placas simples. Entre o 1.º e 2.º e o 3.º par e logo após o terceiro par de lobulos abrem-se de cada lado os macroporos das tres grandes *two-barred* glandulas. Na incisão mediana, na base da placa mediana ha dois espinhos curtos; na base da incisão que divide o segundo lobulo ha tambem um espinho, havendo



Costalimaspis cheloniformis n. sp. - Fig. 12 — Folha de *Eugenia* sp. atacada por *C. cheloniformis*, ca. 1,1 ×. Fig. 13 — Escudo feminino visto dorsalmente sem exuvia larval, augmentado. Fig. 14 — Escudo feminino visto dorsalmente com exuvia larval, augmentado. Fig. 15 — Escudo feminino visto de perfil, augm. Figs. 16 e 17 — Escudos masculinos, augm. Fig. 18 — Exuvia larval, muito augmentada. Fig. 19 — Pygidium da larva, muito augmentado. Fig. 20 — Femea do 2.º estado, muito augm. Fig. 21 — Pygidium da femea do 2.º estado, muito augmentado. (J. F. Toledo, del.)

outro na base da primeira incisão do 3.o par de lobulos. Depois do 3.o par de lobulos o pygidium nada apresenta, seguindo-se apenas a margem serreada. Correspondendo ás bases dos lobulos encontramos áreas chitinizadas triangulares, alongadas, com a base na base dos lobulos.

A larva é de forma ovalada, de côr branca, medindo em média 0,32 mm. de comprimento por, 0,24 mm. de largura, apresentando um pygidium com um



Costalimaspis cheloniformis n. sp. - Fig. 22 — Femea adulta, muito augmentada. Fig. 23 — Pygidium da femea adulta, muito augm. Fig. 24 — Macho adulto, muito augmentado. (J. F. Toledo, del.)

par de lobulos medianos convergentes, de lados serreados. O 2.º par de lobulos é bastante differente dos medianos, pois são bem mais estreitos e mais alongados. Entre o 1.º e 2.º par de lobulos existe um forte espinho. Após o segundo par de lobulos encontramos duas placas espatuladas separadas por um forte espinho. O escudo masculino é claro, alongado, com a exuvia larval de côr amarella em uma extremidade. Tem em média 1 mm. de comprimento, por 0,45 mm. de largura. Macho adulto difficilmente encontrado.

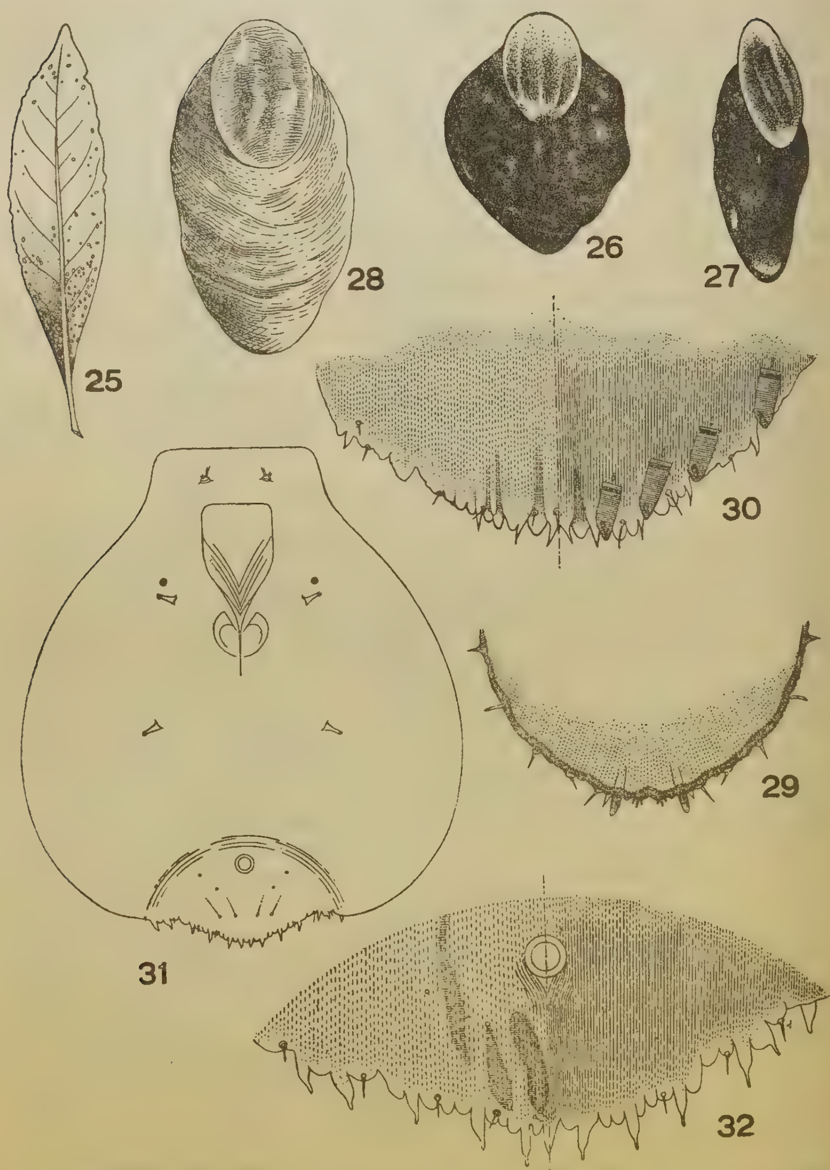
Differe de *C. eugeniae* pela forma do escudo feminino, pela forma e armadura do pygidium da femea do 2.º estado e pelos caracteres da femea adulta.

Hospedeiro: Encontrado em ambas as faces das folhas de pitangueira (*Eugenia* sp.) no Jardim da Luz em São Paulo, pelo autor, em Março de 1936.

Typos: Incorporados ás Collecções Entomologicas do Instituto Biologico de São Paulo e do Instituto Oswaldo Cruz no Rio de Janeiro.

Costalimaspis atibaiensis n. sp.

Escudo da femea adulta formado exclusivamente pela pelle da segunda forma larval, preta, endurecida e sem secrecção. Tem a forma arredondada, afilada para a parte posterior, convexo, com a exuvia larval, quando presente, situada na parte anterior. E' mais convexo na parte anterior e mais comprido na posterior. Quando é perdida a exuvia larval, ficam impressas na superficie do escudo as linhas com a forma della. A superficie do escudo não é lisa; apresenta-se com irregulares elevações. Na face ventral o escudo é de côr clara. Mede o escudo da femea adulta 0,62 a 071 mm. de comprimento por 0,48 a 0,56 mm. de largura por 0,18 mm. de altura. A femea adulta, que é reduzida em dimensões e fica completamente encerrada na 2.ª pellicula larval, é piriforme, estreita na parte cephalica, onde se apresenta com a parte anterior recta e com duas pequenas expansões lateraes; na parte posterior a femea é muito alargada. As antennas são representadas por dois pequenos tuberculos com pellos. Estigmas tracheaes bem desenvolvidos, apresentando um spiracerore em cada estigma anterior. A femea adulta tem em média 0,24 mm. de comprimento por 0,22 mm. de largura. O pygidium da femea adulta apresenta-se em uma curva muito grande; é quasi recto. Apresenta uma série de expansões em forma de tetas ou garrafas, em numero de 10 a 14, alternando com outras menores e arredondadas, asymetricamente dispostas. Na margem do pygidium, quer na face dorsal quer na ventral, existem espinhos glandulares conicos em numero de 18, numero que pouco varia. Anus bem desenvolvido, situado no meio da distancia que vae da vulva á parte terminal do pygidium. Vulva bem desenvolvida. Não ha discos circumgenitaes e apparentemente não ha glandulas tubulares. Especie vivipara. A femea do segundo estado larval apresenta-se arredondada, com antennas representadas por um pequeno tuberculo com pellos. O pygidium apresenta-se com 3 pares de lobulos. O primeiro par é composto de lobulos triangulares, de lados ligeiramente serreados; o segundo par apresenta lobulos divididos ao meio por uma profunda incisão mediana; o terceiro par de lobulos é formado por um largo lobulo dividido em tres por duas incisões, sendo esses lobulos do terceiro par pouco desenvolvidos. Entre os lobulos medianos existe uma larga placa



Costalimaspis atibaiensis n. sp. - Fig. 25 — Folha atacada, pouco augmentada. Fig. 26 — Escudo feminino visto dorsalmente, augmentado. Fig. 27 — Escudo feminino visto de perfil, augm. Fig. 28 — Escudo masculino, augm. Fig. 29 — Extremidade do abdomen da larva, muito augmentada. Fig. 30 — Pygidium da femea do 2.º estado, muito augm. Fig. 31 — Femea adulta, muito augm. Fig. 32 — Pygidium da femea adulta, muito augmentado. (L. Ribeiro Silva del.)

bifida mais longa que o comprimento dos lobulos; entre o 1.º e 2.º par de lobulos existe uma placa, havendo outra entre o 2.º e 3.º par de lobulos e outra depois do 3.º par, um pouco afastada deste. Entre o primeiro e o segundo, entre o 2.º e 3.º, logo após o terceiro e um pouco depois deste, encontramos de cada lado o pygidium os macropóros das 4 grandes *two-barred* glandulas. Tambem encontramos espinhos nas margens do pygidium, quer na face ventral quer na face dorsal. A larva é de côr branca, ellyptica, medindo em média 0,30 mm. de comprimento por 0,22 mm. de largura, apresentando dois lobulos espatulados muito afastados entre os quaes existem duas placas; após os lobulos encontramos, de cada lado, tres espinhos muito fortes. O escudo do macho é de côr clara, esbranquiçada, alongado, medindo 0,63 a 0,70 mm. de comprimento por 0,48 a 0,56 mm. de largura, com a exuvia larval de côr amarella clara em uma extremidade. Macho adulto semelhante ao das especies anteriores.

Differe das especies precedentes pela forma dos escudos femininos, e pela diversidade de caracteres do pygidium da femea adulta.

Hospedeiro: Encontrados nas folhas de uma planta silvestre, pelo autor, em Atibaia, em 14 de Fevereiro de 1937.

Typos: Incorporados ás Collecções Entomologicas do Instituto Biologico de São Paulo e do Instituto Oswaldo Cruz do Rio de Janeiro.

ABSTRACT

In this paper the author describes one new genus, Costalimaspis and three new species Costalimaspis eugeniae, C. cheloniformes and *C. atibaiensis, all from the State of S. Paulo, Brazil.*

BIBLIOGRAPHIA

BELLIO, G. — 1929 — Note su Diaspinae dell'Estremo Oriente. Bol. del Lab. di Zool. Portici, **22**: 219-243.

BRAIN, C. K. — 1918 — The Coccidae of South Africa. Bulletin of Entom. Research, **9**: 107-139.

COCKERELL, T. D. A. — 1899 — The Industrialist, p. 278.

FERNALD, MS. H. T. — 1903 — A Catalogue of the world, 360 pp.

FERRIS, G. F. — 1936 — Microentomology — 1 — Contribuitions to the knowledge of the Coccoidea. Stanford University. 1 vol. c/ 92 pp.

FERRIS, G. F. — 1937 — Atlas of scale Insects of North America. Stanford University, 1 vol. c/ 272 pp.

FROGGATT, W. W. — 1915 — A descriptive catalogue of the Scale Insects (Coccidae) of Australia. 3 vols. c/ 266 pp.

GREEN, E. E — 1899 — Supplementary notes on the Coccidae of Ceylon. Bombay Natural History Society, **13**: 66-76.

GREEN, E. E. — 1900 — Supplementary notes on the Coccidae of Ceylon. Bombay Nat. Hist. Soc., **14**: 340-358.

GREEN, E. E. — 1913 — Supplementary notes on the Coccidae, **28**:1007-1037.

HEMPEL A. — 1900 — As Coccidas Brasileiras. Revista do Museu Paulista, **4**: 365-537.

LINDINGER, L. — 1909 — Die Schildlausgattung Gymnaspis Newstead. Deutsch. Entom. Zeitsch., pp. 148-153.

LINDINGER, L. — 1910 — Die Schildlausgattung Gymnaspis Newstead. Deutsch. Entom. Zeitsch., pp. 437-440.

LINDINGER, L. — 1912 — Die Schildläuse (Coccidae). Stuttgart, 1 vol. c/ 396 pp.

LINDINGER, L. — 1932 — Beiträge zur Kenntnis der Schildläuse. Abdruck der Entom. Rundschau. 1-17.

LINDINGER, L. — 1937 — Neue Beiträge zur Kenntnis der Schildläuse. Entomologisches Jahrbuch, 148-167 - 1936 e 178-198 - 1937.

NEWSTEAD, R. — 1901 — Monograph of the Coccidae of the British Isles-Ray Soc. Station, 2 vs. 1901-3.

SANDERS, J. G. — 1906-9 — Catalogue of recently described Coccidae. Bul. U. S. Bur. Entom., Tech. Ser., 3 partes com 61 pp.

SASSCER, E. R. — 1911-12 — Catalogue of recently described Coccidae. Bul. U. S. Bur. Entom., Tech. Ser., **16**: 61-74 e 83-97.

SASSCER, E. R. — 1915 — Catalogue of recently described Coccidae. Entom. Proc. Entom. Soc. Wash.

TAKAHASHI, RYOICHI — 1936 — Two interesting scale insects attacking the Lauraceae in Formosa. Trans. of the Nat. Hist. Soc. of Formosa, **26**: 82.

TAKAHASHI, RYOICHI — 1936 — Some coccidae from China. Peking Nat. Hist. Bulletin, **10**: 220.

Vol. 8 — Art. 19 Dezembro de 1937

A EXISTENCIA DA PLATYEDRA GOSSYPIELLA (SAUNDERS) NA FLORAÇÃO DOS ALGODOEIROS EM S. PAULO, DURANTE 1936-1937

POR

E. J. Hambleton

Trabalho do Instituto Biologico de S. Paulo

Com as estampas 35-36

Comquanto não haja duvida de que a lagarta rosada tenha apparecido como praga das partes floraes dos algodoeiros em São Paulo, antes da cultura 1936-937, o facto não se acha mencionado na literatura que tivemos opportunidade de consultar. Em fins de Novembro de 1936, o Dr. S. C. HARLAND, conselheiro technico do Instituto Agronomico, chamou-me a attenção para o facto de haver observado séria infestação de lagarta rosada nos botões floraes dos algodoeiros plantados em Setembro na Estação Experimental de Tietê. De accordo com as contagens feitas no campo pelo Dr. HARLAND, ficou patente, naquella occasião, que uma porcentagem elevada de botões já estava infestado, facto que foi logo comprovado em varias partes do Estado.

Para a maioria dos «cotonicultores» e outros interessados na producção do algodão, a lagarta rosada era conhecida somente atacando as maçãs verdes e sementes dos algodoeiros. Esse conhecimento foi adquirido primeiramente pela experiencia e observação dos prejuizos causados pelo insecto, principalmente na epoca da colheita e tambem pela propaganda relativa ao espurgo de sementes. Poucos agricultores sabem que tambem o quiabeiro, *Hibiscus esculentus,* lhe serve de hospedeiro. Em verdade muito poucas informações exactas com relação aos habitos e cyclo de vida da lagarta são conhecidas sob as condições do Estado de S. Paulo. Desde que a infestação pela lagarta rosada vem sendo constatada como nova praga em diversas regiões do Estado, de poucos annos para cá, e em virtude do augmento dos prejuizos que redunda num custo de producção mais elevado, pareceu-nos de vantagem publicar os resultados das poucas observações sobre a actividade desse insecto, realizadas no correr da cultura passada.

As mariposas de *Platyedra gossypiella,* emergindo durante o mez de Novembro, são attrahidas para os algodoeiros plantados mais cedo, depositando os ovos isoladamente nos botões floraes, provavelmente onde a pilosidade é mais intensa, podendo ainda deposital-os

sob a extremidade dos calices, conforme se vê na estampa 35, fig. A, ou ainda nas bracteas. As lagartas recemnascidas, perfurando, penetram rapidamente e se estabelecem nas porções mais tenras do botão, alimentando-se, durante os primeiros dias, das antheras immaturas que ficam na pequena cavidade arredondada no apice do botão floral. Nada menos de 6 lagartas recemnascidas foram encontradas num só botão, porém nunca mais de uma attinge a maturidade. Durante o seu crescimento, a lagarta póde prejudicar tanto o botão, que este, não se desenvolvendo, murcha e cae da planta (estampa 36, fig. E). Na maioria dos casos, comtudo, foi constatado que os botões se transformam em flores, porém as partes destas, principalmente o estygma e as antheras, são tão prejudicadas que impedem a fructificação por não se realizar a fecundação. Larvas de differentes tamanhos pódem ser occasionalmente observadas na base das petalas no lado interno das flores e parcialmente occultas por um tecido de seda frouxo. As flores muito damnificadas, que não tenham sido fecundadas, depois de murchas, caem com as pequenas maçãs. No entanto, si o crescimento da lagarta não se completou antes da queda das flores, a lagarta quasi crescida nellas permanece, continúa a alimentar-se e transforma-se em chrysalida dentro da flor, sobre o chão. Varias vezes foram encontradas lagartas penetrando as maçãs atravez da base das petalas.

Os exames feitos no campo de algodoaes plantados mais cedo começaram na primeira semana de Dezembro, com o fim de determinar a extensão e a quantidade da infestação pela lagarta rosada nas differentes zonas do Estado. Nessa occasião sómente as plantações de Setembro estavam começando a floração e a maioria das observações restringiram-se ás plantações dessa epoca. A collecta de botões floraes, flores abertas e maçãs novas e flores cahidas e maçãs do chão foi feita indifferentemente nas plantações. Com o auxilio de um microscopio binocular, essas formas foram criteriosamente examinadas em laboratorio, afim de serem encontradas as lagartas. Não se cogitou de fazer uma determinação do augmento da população da lagarta ou dos factores que affectaram a infestação na occasião em que foram feitas as contagens.

Os resultados das contagens feitas durante os mezes de Dezembro de 1936 e Janeiro de 1937, com o fim de determinar a porcentagem de infestação pela lagarta rosada nos botões, flores e maçãs dos algodoeiros, estão expressos na tabella 1. A media de infestação do conjuncto de formas examinadas desde 4 de Dezembro a 11 de Janeiro foi de 40,29 %, com um maximo de 94 % e um minimo de 1,60 %. Sem duvida a infestação media poderia ter sido consideravelmente mais alta se maiores quantidades de flores do chão

TABELLA 1

Infestação de *Platyedra gossypiella* SAUNDERS em botões, flôres e maçãs de algodoeiros no periodo de Dezembro a Janeiro de 1936-1937, Estado de S. Paulo

Localidades	Data do plantio	Data do exame	N.º total de formas examinadas	INFESTAÇÃO DE........						Por-centagem de Infestação
				Botões		*Flores*		*Maçãs*		
				Na planta	No chão	Na planta	No chão	Na planta	No chão	
Marilia	1 a 21 - IX	4 - XII - 36	86	64	—	—	—	—	—	74,41
Campinas (L.) . . .	25 - IX	7 - XII - 36	100	68	—	6	—	—	—	74,00
Chavantes	1 a 21 - IX	10 - XII - 36	136	65	—	4	—	2	—	52,94
Campinas (S. E.) . .	11 a 21 - IX	16 - XII - 36	125	2	—	—	—	—	—	1,60
Campinas (S. E.) . .	11 - IX	17 - XII - 36	63	—	—	—	28	—	4	50,80
Campinas (L.) . . .	25 - IX	17 - XII - 36	200	33	—	16	73	—	5	63,50
Tietê	1 a 21 - IX	19 - XII - 36	375	16	—	8	13	3	2	11,20
Catanduva	1 - IX	22 - XII - 36	273	45	—	28	31	—	4	39,56
S. João B. Vista. . .	1 a 21 - IX	4 - I - 37	100	10	—	4	—	—	—	14,00
Marilia	1 a 21 - IX	8 - I - 37	85	47	—	29	—	4	—	94,00
Marilia	15 - XI	8 - I - 37	48	18	—	22	—	—	—	83,33
Campinas (S. E.) . .	13 a 20 - X	11 - I - 17	87	28	—	—	—	—	—	32,18
Campinas (S. Q.) . .	15 - X	11 - I - 37	120	60	—	—	—	—	—	50,00
Campinas (M. D.) . .	16 a 30 - X	11 - I - 37	100	22	—	—	—	—	—	22,00

tivessem sido examinadas. Em dois campos, onde as contagens foram realizadas em 17 de Dezembro, em Campinas, a porcentagem de infestação de flores cahidas foi unicamente de 50,8 % e 66,0 % respectivamente. No dia anterior o primeiro campo revelou uma infestação somente de 1,60 % nos botões floraes. Parece que as condições de cada campo individualmente e o desenvolvimento dos algodoaes nas diversas localidades onde as contagens foram realizadas foram factores de consideravel importancia durante o periodo em que occorreu a infestação.

Nos annos anteriores os lavradores foram constantemente avisados afim de que, por causa da bróca do algodoeiro, não deviam effectuar o plantio dos algodoaes senão no mez de Outubro. Embora esse aviso nem sempre tenha encontrado adeptos, presentemente precisa ser feito mais insistentemente, pois é necessario impedir o desenvolvimento de uma grande população de lagartas no começo da cultura. Duas gerações desses insectos pelo menos, foram produzidas nas plantas que escaparam dos intensos ataques pela bróca, antes que os agricultores tivessem sciencia do facto. Foi commum, depois de meiados de Dezembro, observarem-se casos de grande quantidade de botões e flores cahidos, muito dos quaes o foram directamente devido aos damnos causados pela lagarta. Na estampa 36, fig. E, mostra-se um caso typico de um plantio feito em 1.º de Setembro, no qual em 44,8 % de flores seccas e maçãs novas encontradas sobre o chão, foram encontradas lagartas completamente desenvolvidas ou crysalidas de *Platyedra gossypiella*. Neste mesmo algodoal 28 % das flôres abertas e 47,4 % dos botões continham lagartas. Em alguns campos a infestação foi tão elevada que somente poucas maçãs conseguiram desenvolver-se. Nem sempre, porém, os algodoaes plantados mais cedo soffrem os maiores prejuizos pela lagarta rosada, porque, devido ao habito, parte das mariposas migram para outros campos plantados mais tardiamente.

As contagens feitas em varios campos de Outubro e em um de Novembro mostraram que a infestação media de 8 a 11 de Janeiro de 1937 era de 42,92 %. Será de interesse annotar que os algodoaes plantados em Novembro, em Marilia, estavam situados cerca de 3 kilometros dos plantados em 1-21 de Setembro, que apresentavam 94 % de infestação na mesma occasião. Nesse campo, plantado a segunda vez com algodão, foi constatado haver muito poucas lagartas em comparação com o anno anterior. Na occasião em que o material foi colhido para exame a floração se estava iniciando, razão por que somente 48 flores e botões puderam ser obtidos. Destes, 40, ou 83,33 % continham lagartas. Assim, com o rapido augmento das mari-

posas, facilitada pela existencia de algodoaes plantados por um periodo de tres a quatro mezes, é justo esperar um grande ataque nas maçãs que amadureceram mais tardiamente, antes da colheita.

Ante os resultados das contagens feitas no campo, foi previsto com muita antecedencia que os prejuizos devidos á largarta rosada seriam muito maiores do que os que se verificaram nos annos anteriores. Embora muitas perdas verificadas na cultura 1936-937 tenham sido atribuidas a desfavoraveis condições do tempo, devemos admittir que a maior parte dellas foi devida principalmente á lagarta rosada. Devemos tambem comprehender que um augmento na quantidade de chuvas durante a cultura poderá ou não ter favorecido o insecto, uma vez que não existem ainda dados que esclareçam a relação que a humidade e a temperatura possam ter no desenvolvimento da *P. gossypiella,* sob as condições do Estado de S. Paulo.

Não será agradavel para os «cotonicultores» saber que esta praga se cria nos botões e flores dos algodoeiros, mesmo que não tenham até agora soffrido vultosos prejuizos nos plantios realizados mais cedo. Os effeitos da infestação nos algodoaes plantados cedo poderão não reduzir muito a sua safra final. No entanto sendo grandemente augmentada a população do insecto nesses campos, é certo que os prejuizos verificados serão maiores nos algodoaes plantados mais tarde.

E' claro, portanto, que os que insistem em iniciar os plantios mais cedo, deverão ser obrigados a retardar as plantações afim de beneficiar as culturas em geral; ou, ainda, a actuação official deverá manifestar-se fixando as datas do plantio, que poderão ser estabelecidas de accordo com o conhecimento das areas algodoeiras do Estado.

ABSTRACT

The occurence of the pink boll worm, Platyedra gossypiella Saunders in the floral parts of the cotton plant is reported for the first time in the State of São Paulo. Brief notes are given on the activity of the insect and the nature of its attack in the cotton buds and flowers during the season 1936-937. Data is presented to show the results of field counts made to determine the percentage of infestation by the pink boll worm in floral parts of September planted cotton in several widely separated areas of the State. Although growers have constantly been warned not to plant cotton earlier than October on account of the cotton borer, Gasterocercodes brasiliensis Hambl., *it would now seem even more advisable to delay planting until October in order to prevent the development of a large boll worm population early in the season.*

———o———

EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

Estampa 35

Fig. *A* — Ovos de *Platyedra gossypiella* (Saunders), postos no laboratorio sobre um botão de algodoeiro. (B. Mazza phot.)

Fig. *B* — Botão floral de algodoeiro mostrando dois orificios por onde entraram lagartas de *Platyedra* recemnascidas. (B. Mazza phot.)

Estampa 36

Fig. *C* — Botão floral atacado pela lagarta rosada, *Platyedra gossypiella*. (B. Mazza phot.)

Fig. *D* — Corte longitudinal do botão representado na fig. *C*., mostrando a lagarta rosada e os estragos feitos por ella. (B. Mazza phot.)

Fig. *E* — Vista parcial mostrando as flores e maçãs novas cahidas no chão, de algodoeiros plantados em 1 de Setembro de 1936. Desses, 44,8°/o estavam infestados pela lagarta. (Autor phot.)

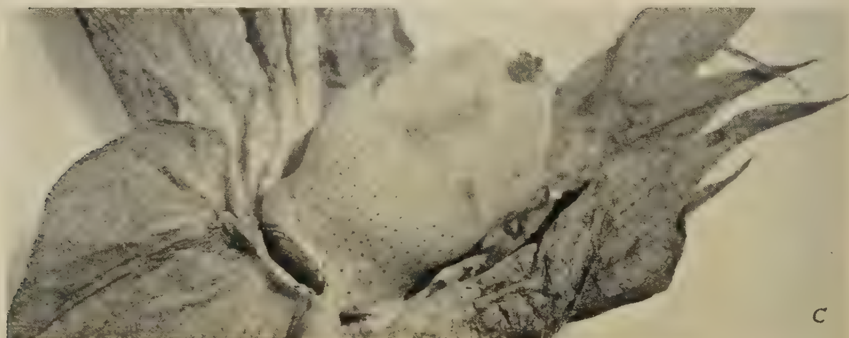




A



B



C



D



E

Vol. 8 — Art. 20 Dezembro de 1937

SOBRE OS ONYCHOPHOROS

POR

E. Marcus

Trabalho do Instituto de Zoologia da Universidade de S. Paulo

Com 2 figuras no texto

Familiarisado com os traços geraes da morphologia dos Onychophoros por meus estudos especiaes sobre os Tardigrados, grupo com elles aparentado, aproveitei com muito prazer a occasião favoravel para a classificação de dois exemplares de proveniencia brasileira que me offereceu o meu collaborador do Instituto, Dr. P. SAWAYA. Faz parte esse material valioso e raro da collecção goiana BLASER, que, graças ao meu veneravel predecessor Prof. E. BRESSLAU, foi comprada pelo Governo de São Paulo para o nosso Instituto. E' natural que a classificação do material de mais uma especie nova, *Peripatus (Epiperipatus) evelinae*, cuja descripção será publicada no tomo 21 da Revista do Museu Paulista, novamente me induziu a aprofundar-me nos problemas interessantes da morphologia e zoogeographia dos Onychophoros.

Nestes animaes terrestres de 5 cm mais ou menos, de comprimento, assemelha-se o aspecto do corpo, approximadamente, ao das lagartas (fig. 1). Possúem cuticula chitinica, muitas vezes formosamente desenhada e colorida. As rugas e tuberculos cuticulares mostram varios typos e ordem alternada, caracteres esses importantes para a differenciação das especies. A cabeça passa, sem limite distincto, ao tronco e apresenta os seguintes orgãos principaes: duas antennas *(at)* cerdosas antes da bocca, e duas pernas rudimentares sem garras e retracteis, as chamadas papillas oraes *(pa)*, nas pontas das quaes desembocam as enormes glandulas mucosas, ramificadas *(m)*. Possivelmente não são estrictamente homologas as antennas dos Onychophoros ás dos Myriapodos e Insectos. Verosimilmente são, nos Onychophoros, appendices do primeiro segmento que, do seu inicio, têm posição preoral. Nos Arthropodos restantes o segmento correspondente não possúe celoma verdadeiro nem appendices. As primeiras antennas dos Crustaceos, as unicas dos Myriapodos e Insectos, como tambem as cheliceras das Aranhas representam as extremidades do segundo segmento. Por isso, recommendar-se-ia, talvez, a denominação «pre-antennas» para as antennas dos Onychophoros. A segmentação do cerebro que condicionaria uma homologia das cheliceras e das segundas antennas dos Crustaceos não foi tomada em consideração. Segundo HANSTRÖM (1935) correspondem os nervos das pre-antennas dos Onychophoros aos nervos dos palpos dos Polychaeta.

Mastigam os Onychophoros por meio de mandibulas movidas por musculatura estriada. Mordem com a ponta das mandibulas, ao passo que Crustaceos, Insectos e Aranhas actúam com a base de taes extremidades. Atráz das pre-antennas dos Onychophoros estão geralmente situados dois pequenos olhos vesiculares *(ol),* que se assemelham aos olhos de certos Polychaeta pelagicos da familia das Alciopidae. Sendo todos os Onychophoros lucifugos, deixando no crespusculo e á noite o seu domicilio entre folhas cahidas ou sob páo apodrecido, não é verosimil que se orientem por meio dos seus olhos primitivos, mas principalmente pelas antennas. Ha até especies cégas, de antennas altamente desenvolvidas. Tendo percebido o Onychophoro um pequeno cupim, uma lagarta ou um vermiculo, ejacula das grandes glandulas, em jactos fortes, o muco que se torna no ar laços viscosos e pegajosos, segurando assim a presa. Aproveitam-se os Onychophoros do muco que pódem lançar até a distancia de 45 cm., tambem como meio de defeza; e são não sómente carnivoros, mas nutrem-se tambem de material vegetal morto.

O corpo do animal, que não tem segmentação externa, é um tubo de musculatura lisa firmemente ligada á camada subepidermica. E' indubitavelmente um tronco de verme, mas é supportado e movido por patas (fig. 1, *p*) que funccionam como alavancas verdadeiras, portanto, da mesma maneira que nos Arthropodos. Sendo côtos curtos, essas extremidades, das quaes ha 14 até 43 pares, não pódem ser homologadas, sem delongas, com as pernas articuladas dos Insectos, mas correspondem todavia, a estas nos traços fundamentaes da estructura e funcção. São evaginações ocas da parede musculosa do corpo, providas de duas garras chitinicas, e mostram uma parte basal, a chamada perna, em forma de cone, e o pé muito menor. Não rastejam os Onychophoros nem ajudam o movimento das patas serpeando o corpo para os lados, mas andam como piolhos de cobra, ficando o corpo rectamente estendido. São mesmo capazes de trepar de certo modo pelas paredes de um vidro, e movem-se para tráz quasi tão bem como para diante.

Na base das patas desembocam os orgãos excretorios, que são nephridios [1] verdadeiros, como os que existem nos Annelideos. Esses orgãos, de funis abertos ciliados (*f*) e provavelmente de epithelio ciliado tambem nos canaliculos efferentes, ligam os Onychophoros aos vermes mencionados, separando-os dos Arthropodos, que não possúem taes nephridios nem epithelio ciliado algum. Respiram os Onychophoros por meio de tracheas, portanto, por invaginações tubulares chitinisadas da pelle, tão caracteristicas para o terceiro dos tres grandes gru-

---

[1] Sigo aqui a autoridade de RAMIZ GALVÃO, que registra em seu Vocabulario Ethymologico, Orthographico e Prosodico «nephridio» não «nephridia».

pos dos Arthropodos, os Tracheados ou Antennados (Myriapodos e Insectos). Sendo dispersas irregularmente na superficie do corpo as entradas das tracheas, os estigmas (*e*), e não havendo anastomoses e ramificações dos tubulos mesmos, cujas terminações, no entretanto, não se conhecem sufficientemente, a conformidade dos orgãos respiratorios com os dos Tracheados verdadeiros não é completa. Além disso, não ha tracheas sómente nos Insectos, Myriapodos e em outros Arthropodos, como nas Aranhas, e em Crustaceos terrestres, por exemplo nos Tatuzinhos, mas tambem invaginações cutaneas semelhantes em Polychetos terrestres, habitantes das praias limosas do Archipelago malayo. Por outro lado, certamente não deve ser sobre-estimado o ultimo achado, por si mesmo muito interessante, pois parece tratar-se de «tracheas» curtas, extraordinariamente primitivas. A sua confrontação com as dos Onychophoros dá-se sómente de maneira forçada ou pelo menos artificial. Os diverticulos da cavidade respiratoria da familia Janellidae (Athoracophoridae) ramificados, mas não providos de cuticula, não justificam, no meu entender, a denominação «tracheas», se bem seja o grupo destes caracóes chamado Tracheopulmonados.

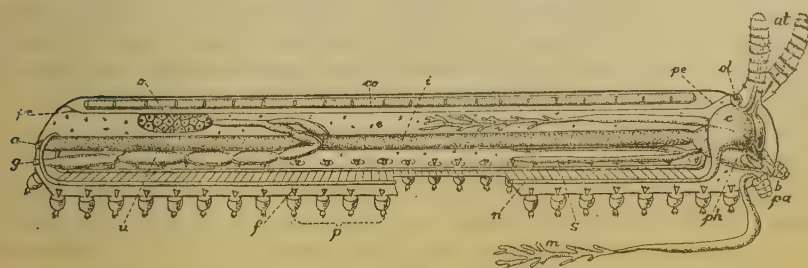


Fig. 1 — Schema da organisação dos Onychophoros. - *a* anus, *at* antennas, *b* bocca, *c* cerebro (ganglio esophageano superior), *co* coração, *e* estigmas, *f* funil do nephridio, *g* abertura genital, *i* intestino, *m* glandula mucosa, *n* cadeia nervosa, *o* ovario, *ol* olho, *p* patas, *pa* papilla oral, *pe* pericardio, *ph* pharynge com as mandibulas, *s* glandula buccal, *u* utero.

Sendo assim as tracheas estructuras de origem polyphyletica e, portanto, orgãos analogos, resultados de desenvolvimento convergente, não pódem decididamente definir a posição dos Onychophoros no systema. O apparelho circulatorio, porém, é, em nosso grupo, indubitavelmente do typo dos Arthropodos. Os vermes chamados superiores possúem systema fechado dos vasos sanguineos, ao passo que os Arthropodos, em correlação morphologica com a dissolução das paredes dos saccos celomaticos, mostram varios gráos de reducção das vias sanguiferas. Nos Onychophoros encontramos o «co-

ração» typico dos Insectos (*co*): tubo comprido em posição dorsal, com ostios lateraes, incompletamente separado da cavidade do corpo pelo pericardio (*pe*). Lembra os Arthropodos tambem a posição das gonadas (*o*) que são situadas no dorso do intestino (*i*).

A cadeia nervosa ventral, com o seu annel pharyngeano, fixa a posição dos Onychophoros nos Articulados, portanto, no grupo natural estabelecido por G. CUVIER, que assim reuniu Arthropodos e Annelideos. As duas cordas principaes bem afastadas uma da outra (*n*), de intumescencias ganglionares pouco pronunciadas e numerosas commissuras transversaes e, por outra parte, o cerebro (*c*) bastante especialisado, illustram de maneira muito significante a posição primitiva dos Onychophoros. Taes grupos do reino animal põem muitas vezes em relevo aggregação de caracteres collectivos que reapparecem separados nos varios grupos mais differenciados do mesmo phylo. Cadeia nervosa tão primitiva como a têm os Onychophoros, encontramol-a em Annelideos secundariamente simplificados (Archiannelideos), em Crustaceos primitivos (Branchiopodos) e em Caracóes marinhos muito antigos (Placophoros). O cerebro dos Onychophoros, porém, é muito mais complicado. Segundo HANSTRÖM (1935), assemelha-se no tocante á sua morphologia geral ao cerebro dos Polychaeta, ao passo que os elementos do systema sympathico lembram Chelicerados e Chilopodos. Na differenciação dos centros dos nervos antennaes ha approximação aos Crustaceos, e o corpo central (corpo estriado) tem semelhança pronunciada com os Chelicerados.

Quando G. CUVIER fundou os seus «4 embranchements du règne animal», dos quaes representam os Articulados o segundo, não havia conhecimentos detalhados sobre a embryologia dos Invertebrados, disciplina cujo desenvolvimento rapido e brilhante resultou do emprego de cortes microscopicos. Foi mais tarde posta em duvida a intimidade da ligação de Annelideos e Arthropodos, ao se verificarem as differenças embryologicas dos dois phylos. Typicamente são os ovos dos Annelideos pobres em vitello (alecithos), o qual é igualmente distribuido pelo ovo (iso- ou homolecitho). A segmentação typica é em espiral e, demarcando-se cedo os territorios dos folhetos germinativos e com elles os esboços dos orgãos larvaes, o andamento embryologico segue o typo de desenvolvimento chamado determinado. Os ovos dos Arthropodos são geralmente ricos em vitello, e este é accumulado no centro do ovo (ovos centrolecithos); a segmentação é superficial e o desenvolvimento inteiro é indeterminado, por se formarem tarde os folhetos germinativos e as differenciações morphologicas seguintes. Onde ha larvas dentro dos dois phylos, a divergencia é ainda mais pronunciada. Não julga mais a embryologia comparativa de hoje que

faltem completamente os élos entre os phenomenos ontogeneticos em Annelideos e Arthropodos. As Minhocas, Sanguesugas e Bernaclas (Cirripodos) fornecem exemplos de taes correspondencias. O desenvolvimento dos Onychophoros revela claramente os traços principaes de Arthropodos, com allusões ligeiras aos Annelideos. Estas ultimas consistem, é verdade, sómente em poucas minucias, como a maneira de fechar-se o blastóporo ao longo de uma sutura medial, as relações do blastóporo com a bocca e o anus definitivos, e a formação das duas metades da faixa germinativa. Mas a marca geral do desenvolvimento dos Onychophoros é arthropodaria. A sua segmentação typica é superficial, o blastóporo é uma fenda comprida, da qual migram as cellulas endodermicas para dentro do ovo, onde constituem a parte média (mesodéo) do intestino futuro. Segrega-se o mesoderma em massa multicellular, e os saccos celomaticos verdadeiros desligam-se, formando-se assim a cavidade definitiva do corpo pelo blastocela juntamente com o celoma.

A embryologia, no meu entender, muito contribue para a comprehensão do systema natural dos animaes. Por isso não recommendo considerar os Onychophoros phylo especial entre Annelideos e Arthropodos, mas dar-lhes collocação dentro dos Arthropodos. Tambem nos Tardigrados, entre os Arthropodos recentes, sem duvida os mais aproximados dos Onychophoros, foi a elucidação do desenvolvimento que fixou a sua posição systematica. Tardigrados e Onychophoros devem ser reunidos na classe dos Malacopodos, sendo esta denominação antiga preferivel á mais moderna, de Stelechopodos, que foi creada para um conjuncto de Myzostomidae, Linguatulida e Tardigrada. As Myzostomidae são hoje reconhecidas como Polychetos transformados em correlação com o seu parasitismo. Os Linguatulida até hoje não conseguiram posição definitiva no systema, mas provavelmente são Annelideos aberrantes. A systematica mais cauta consideraria os Malacopodos a primeira e mais primitiva classe dos Arthropodos. Uma denominação commum para os Arthropodos restantes, como foi proposta (Condylopoda), não se recommenda. Estes, os Crustaceos, os Chelicerados (Escorpiões, Aranhas e Ácaros) e Antennados, não são mais proximamente aparentados entre si do que uma destas classes com os Malacopodos. Seria mesmo defensavel considerar os ultimos de certo modo como ligados aos Myriapodos, e pôl-os por isso no começo dos Antennados, da mesma maneira como os Trilobita iniciam a série dos Branchiados (Crustaceos) e os Merostomata, portanto Gigantostraca extinctos e Xiphosura recentes, a dos Chelicerados.

Embora insignificante para os problemas morphologicos e systematicos, seja mencionada a viviparidade em varias especies de Ony-

chophoros. Ha especialisações singulares na familia representada tambem na fauna brasileira, nas Peripatidae. Depois da segmentação total e quasi igual dos pequenos ovos, pobres em vitello, que são caracteristicos para esta familia, os embryões, na phase de 32 cellulas, fixam-se nas paredes dos dois oviductos alargados, que justificadamente se chamam uteros (*u*). Os phenomenos seguintes, como formação do fino envolucro embryonal, o chamado amnios, do «cordão umbilical» e da «placenta embryonaria», que desempenham papel importante para a alimentação dos filhotes pelos tecidos da femea, só pódem ser citados de passagem.

Em animaes de pelle molle, sem esqueleto interno ou externo, não se póde contar que a Paleontologia contribua em grande escala para elucidar a origem das formas recentes. Dahi a importancia dos dois achados fosseis, ambos paleozoicos, cujas relações com os Onychophoros devem ser discutidas. Não como animal fossilisado, mas moldado concavamente, portanto, como impressão, apresenta-se o *Xenusion auerswaldae* POMP., cambriano ou algonciano. Testemunha da vida nas camadas mais antigas das quaes se conhecem animaes, o *Xenusion* dá prova de organisação estupendamente alta. Pertence elle, sem duvida alguma, aos Articulados. Foi um animal verosimilmente terrestre, talvez littoral, de segmentos iguaes, com um par de extremidades em cada segmento. São de certo modo tentadoras essas patas simples, anneladas, mas não articuladas, correspondentes assim ás dos Onychophoros e Tardigrados, ao passo que possúem parapodos bilobados os Polychaeta e pernas articuladas, os Arthropodos. Taes formas tornam completamente hypothetica a ascendencia de phylos inteiros, cuja origem deveria ser deslocada para camadas precedentes que realmente nada deixam ver de vestigios vitaes. Para esclarecer a origem dos Onychophoros não contribue muito o *Xenusion,* por serem as suas patas postas lateralmente, e não haver nelle indicação da esculptura caracteristica da cuticula dos Onychophoros, que deveria ser conservada em consideração ás restantes estructuras. Duas séries de grandes gibbas ventraes foram interpretadas como saccos coxaes e, portanto, orgãos respiratorios dum typo conhecido em Myriapodos, Insectos apterygotos, Aranhas e outros. Sem duvida ha tambem nos Onychophoros pequenas bexigas coxaes, situadas na base das patas e que pódem ser evaginadas por pressão do liquido da cavidade do corpo, servindo assim provavelmente á respiração. Mas por encontrarem-se taes saccos ventraes ou coxaes em varios grupos de primitivos Arthropodos terrestres, pódem elles, a meu vêr, apenas suggerir parentesco proximo entre *Xenusion* e Onychophoros.

E' interessante que nos primeiros rotulos fixados em Onychophoros collecionados, estes foram especificados com o nome de *Nereis*, portanto, de um genero de Polychetos. *Aysheaia pedunculata* Walc. do Cambriano médio, animal marinho descoberto 150 annos mais tarde, tambem foi descripto como Polycheto. Sem querer incorporar *Aysheaia*, em virtude dos seus appendices post-cephalicos, á classe dos Onychophoros, não contesto a existencia de semelhanças importantes. *Aysheaia* possúe cabeça pequena, com duas antennas dirigidas para a frente e dois lobos arredondados, cuja posição probabiliza antes olhos pedunculados que papillas oraes. Os 10 segmentos do corpo são annelados e providos de esculptura cuticular; as patas são simples e munidas de cerdas curvas, que talvez sejam comparaveis ás garras dos Onychophoros. Falta a differenciação em perna e pé, como se dá nos Onychophoros, e é, além disso, terminalmente situada a bocca, em opposição á ventral dos Onychophoros. Não revelam muito os caracteres restantes: a sua interpretação mais ou menos dubia e vaga importancia phylogenetica. Como do *Xenusion*, só se conhece um exemplar da *Aysheaia;* e sem entrar em pormenores da taxação subjectiva da posição systematica exacta, contentar-nos-emos com as relações evidentes entre *Aysheaia* e os Onychophoros recentes. Foi constatada nestes respiração cutanea, superando mesmo a tracheal, assignalando-se tal phenomeno em relação com parentela marinha.

Sem duvida a procedencia escandinava do *Xenusion* e a canadense da *Aysheaia* serão consideradas como testemunhas da chamada theoria de relictos. Resumida concisamente, pretende esta theoria que no hemispherio septentrional do globo terrestre se encontram os grandes centros de origem e evolução dos animaes. As formas ahi nascidas, cada vez mais bem adaptadas, no decorrer das épocas geologicas, repelliram successivamente as mais velhas, mais primitivas, que emfim acharam refugio nos continentes meridionaes. A discussão dos fundamentos da theoria de relictos far-nos-ia vagar longamente pela Zoologia theorica, onde a ideia primitiva da luta pela existencia deveria ser confrontada com a do equilibrio biologico, menos transparente por ser mais profunda, onde a descendencia dos animaes não mais se apresenta como uma arvore que se levanta da raiz para a copa, com alguns ramos lateraes sómente, mas como um arvoredo, cujas raizes as mais das vezes se ignoram. Melhor ainda seria a imagem duma rede, cujas malhas, aqui entrelaçadas, e alli dilaceradas, ou faltando completamente, de modo algum fazem reconhecer subida progressiva, adaptação cada vez mais especialisada e modernisação em concordancia com a successão temporal. Em segundo lugar, precisar-se-ia considerar até que ponto o estado de investigações paleontologicas e as

presupposições geologicas e ecumenicas nos continentes meridionaes realmente já hoje permittem taes generalisações, como as enuncia a theoria mencionada. Quanto aos factos, ha, ao lado de não poucos exemplos que talvez falem a favor da theoria, outros, contradictorios: os Mammiferos da America do Sul são em parte autochtones (Desdentados, Roedores hystricomorphos e, entre os Ungulados extinctos, os Pyrotherios). Os nossos Marsupiaes têm origem septentrional, mas os australianos descendem, pelo menos em parte, dos sulamericanos. Os Cricetos, grupo muito velho, só faltam em Madagascar, Nova Guiné, Australia, e Nova Zeelandia; foram, portanto, em lugar nenhum desalojados por Roedores mais modernos, acaso Ratos. O Gambá, cujo genero já se conhece desde o Eoceno, mantem-se com facilidade no meio da fauna muito moderna da America do Norte. Os Ouriços, tambem antigos, extinguiram-se no seu «centro de origem» na America do Norte, sem entrar, porém, em «regiões de retirada por excellencia», como a America do Sul, Madagascar e Australia. Os Ouriços sobreviventes habitam Eurasia e Africa. As Salamandras, mais primordiaes que os sapos, distribuidos por toda parte, apenas entraram com representantes esporadicos nos continentes meridionaes; as Salamandras mais primitivas moram na Sibéria, bem septentrionalmente, e na Russia; as mais especialisadas adeantam-se mais longe para o Sul, até a Argentina. Entre os Sapos são encontrados os mais inferiores na Nova Zeelandia e na America do Norte, portanto, «num asylo de typos atrazados» e «num centro de desenvolvimento de formas adeantadas», possuindo até o genero norte-americano coto de cauda. D'outro lado, os Sapos de cabeça larga (Brachycephalidae), cujo esqueleto prova a sua modernidade, são exclusivamente sul-americanos. Entre os Peixes, os velhos Dipnoicos dos tres continentes meridionaes formam exemplos favoritos da theoria de relictos, mas oppõem-se a ella os Ganoideos (Esturjões e outros) antigos, que são proprios do hemispherio septentrional.

Tudo isso nos adverte aproveitar da distribuição geographica dos Onychophoros no sentido da theoria de relictos. Em traços simples, mostra a distribuição a imagem seguinte (fig. 2): do Mexico chegam até o Chile; da região do Congo até o Cabo da Bôa Esperança; dos confins entre a India e o Thibet sobre a peninsula de Malacca e o Archipelago malayo, até a Australia e Nova Zeelandia. Como o mappa o mostra, não são coherentes as regiões occupadas, p. ex., pelos Onychophoros sul-americanos. Ha uma accumulação, um chamado «centro de origem», onde verdadeiramente occorrem as especies tidas como mais primitivas, no isthmo e principalmente na região andina até o Perú e a Bolivia. As formas mais especialisadas da mesma familia

(Peripatidae), habitantes das Antilhas, da Venezuela, Guyana, e dos Estados brasileiros do Pará e Amazonas, encontram-se no alto do Amazonas com o genero andicola. Além disso, merecem o nosso interesse todo peculiar, por irradiar do «centro de distribuição especifico» para o Brasil central e oriental. Ignoram-se ainda os limites dessa irradiação, como tambem quantos subgeneros della participam. Até hoje foram verificadas uma unica especie em Espirito Santo, uma no districto da fronteira de Goyaz e Minas Geraes, e uma em Petropolis. Deixando primeiramente de lado o genero chileno, pertencente a outra familia, passamos á distribuição restante da familia, representa-



Fig. 2 — Distribuição geographica dos Onychophoros. × Fam. Peripatidae, • Fam. Peripatopsidae.

da nos tropicos da America do Sul. Como nos Peixes-boi, em certos Roedores da secção dos Porcos-espinhos, nos Anuros aglossos, nos Dipnoicos dipneumonos, reencontramos tambem os parentes dos Peripatideos sulamericanos na Africa, e mesmo a subfamilia identica. Fornecem assim mais um dos innumeros exemplos que apoiam a theoria de translação dos continentes, segundo a qual se effectuou no cretaceano a separação e, em seguida, o desvio do nosso continente, da Africa. Sem poder discutir os fundamentos geophysicos desta theoria de Wegener, hoje grandemente focada pelos zoogeographos, seja lem-

brado com gratidão o nome de HERMANN v. IHERING, cujos trabalhos geniaes abriram caminho para essa theoria moderna.

Aliás a distribuição geographica das Peripatidae na Asia nada tem de extraordinario, por serem conhecidas de todos as relações faunisticas africo-asiaticas. Borneo separou-se da peninsula de Malacca no quaternario, Sumatra, na mesma época, ainda mais avançada, portanto recentemente. Talvez nos surprehenda a falta da familia na India anterior. Não é isso sem parallelo quanto á fauna terciaria da região oriental, e ha varios indicios de que a época glacial acarretou essa lacuna, frequente na distribuição dos animaes ethiopico-orientaes. Assim o suleste da Asia e tambem as mattas das montanhas indochinezas, apezar das muitas alterações geomorphologicas do Archipelago, conservaram os mais dos traços antigos da fauna oriental.

E' o archipelago malayo uma das regiões mais interessantes para a zoogeographia, por ahi se tocarem dois reinos faunisticos, a Notogea (Australia e Oceania) e a Arctogea (Eurasia, Africa, America do Norte). Naturalmente não ha fronteira demarcada entre os dois reinos, como em nenhuma parte do mundo, entre regiões e provincias faunisticas. São differentes os meios que possibilitam aos diversos animaes vencer as barreiras de distribuição. Além disso entraram na historia terrestre os typos recentes em épocas differentes, portanto sob varias condições paleogeographicas. Encontraram uns talvez o caminho accessivel á distribuição, onde mais tarde a transgressão do mar creou estorvos insuperaveis. Serras elevadas por forças vulcanicas atalham a passagem ás formas da baixada, abrindo ao mesmo tempo a via de distribuição, talvez por ribeiros novos, para animaes de agua doce. Com tudo isso não podemos esperar que seja valida para todos os grupos a fronteira entre a região oriental do archipelago malayo, habitada pela fauna australiana, e as ilhas occidentaes, dominios da fauna asiatica. De grande importancia, porém, senão para todos, todavia para muitos animaes, é a chamada linha de WEBER. Reunindo as grandes profundidades dos mares a leste do archipelago, deixa Halmahera e Ceram na Notogea, Celebes e Timor na Arctogea, não obstante os Marsupiaes habitarem as duas ultimas ilhas. Ao que se sabe hoje dos Onychophoros, relativamente raros, corresponde a sua distribuição completamente á linha de WEBER, encontrando-se em Ceram, Nova Guiné e nos outros districtos da Notogea, exclusivamente a segunda familia, os Peripatopsideos. A julgar pela embryologia, são elles mais primitivos que os Peripatideos. A theoria da translação dos continentes exara que ainda no Eoceno, portanto no Terciario inferior, a ponta meridional da America do Sul, o continente antarctico e a Australia com Nova Zeelandia formaram massa terrestre coherente. No decorrer do

Terciario a Australia fluctuou e, nordesteando, attingiu o archipelago malayo no quaternario. Conjunctamente com as ideias supracitadas da connexão anterior da America do Sul e Africa, a distribuição dos Peripatopsideos do Chile, da Africa meridional e da Notogea, harmoniza perfeitamente com a theoria de WEGENER. Seja frizado que, adoptando-se essa theoria, tambem o parentesco evidente entre os Marsupiaes fosseis e recentes (Caenolestes) da Neogea (America do Sul) e da Notogea se explica simplesmente. Nos Coleoptera, como nos Crustaceos e nos mariscos da agua doce, reencontramos relações intimas entre a fauna chilena e a australiana.

Nem a morphologia, nem a systematica e, com ellas a zoogeographia, dos Onychophoros, se apresentam em integridade desejavel. Faltam-nos não sómente pesquisas pormenorizadas sobre varios assumptos, especialmente da embryologia, mas principalmente collecionadores enthusiastas que busquem augmentar o material disponivel para os scientistas, tarefa essa, sem duvida, muito difficil, mas por isso tanto mais grata. E' finalidade precipua destas linhas despertar o interesse para um grupo tão importante, de todos os pontos de vista da Zoologia. Estaremos sempre promptos para a classificação de material, que naturalmente logo seria devolvido, no Instituto de Zoologia da Universidade de São Paulo (Caixa Postal 2926). Recommenda-se a conservação dos especimens em frascos com alcool, acompanhados duma nota indicando a procedencia e a côr do animal vivente.

ABSTRACT

Working on Tardigrada, the author already discussed the relations of Onychophora and Arthropoda. The description of a new species, Peripatus (Epiperipatus) evelinae from Goyaz (Rev. Museu Paulista, vol. 21) again leads the author to the morphology, development and geographical distribution of the Onychophora. The body and the excretory tubules are annelidan, the legs, the respiratory and circulatory systems and the position of the gonads are arthropodan characters; the nervous system shows merely the general type of Articulata. The development is in the principal lines arthropodan and resembles that of Tracheata (Myriapods, Insects). United with the Tardigrades to the group Malacopoda, the Onychophora represent a class of primitive Arthropoda. It seems even possible to place them in the series of the Tracheata, to which they approach more than to Branchiata and Chelicerata. Of the two fossil forms, Aysheaia pedunculata WALC. *and Xenusion auerswaldae* POMP., *the former undoubtedly has onychophoran features, the latter seems to be farther remote. Application of the theory of relicts to the geographical distribution of Ony-*

chophora is tempting, but the general validity of this theory is doubtful. WEGENER'S *theory of continental dislocation very well explains the actual distribution of the group, that still needs further collecting of material, especially in Brazil.*

BIBLIOGRAPHIA

ANDREWS, E. A. — 1933 — Peripatus in Jamaica. Quart. Rev. Biology, **8**, n.o 2, 155-163.

BORRADAILE, L. A., POTTS, F. A. e outros — 1932 — The Invertebrata. Cambridge.

CUÉNOT, L. — 1926 — L'entonnoir vibratile de la néphridie des Péripates. Ann. Soc. roy. Zool. de Belgique, **56** (1925) 13-17.

HANDLIRSCH, A. — 1925 — Phylogenie oder Stammesgeschichte. Handb. d. Entomologie (Chr. Schroeder), **3**, 307-376, Jena.

HANSTRÖM, B. — 1926 Eine genetische Studie über die Augen und Sehzentren von Turbellarien, Anneliden und Arthropoden. Svensk. Ak. Handl., Ser. 3. vol. **4**, no. 1, pp. 1-176, Uppsala.

HANSTRÖM, B. — 1935 — Bemerkungen über das Gehirn und die Sinnesorgane der Onychophoren. Lunds Universit. Arsskrift. N. F. Avd. 2, vol. **31**, n.o 5. Kungl. Fysiogr. Sällskap. Handl. N. F. vol. **46**, n.o 5, p. 1-38. Lund.

HARMS, J. W. — 1929 — Die Realisation von Genen und die consecutive Adaption. Zeitsch. wiss. Zool., **133**, 211-397, t. 1-7, Leipzig.

HEIDER, K. — 1928 — Entwicklungsgeschichte und Morphologie der Wirbellosen, còpia de: Kultur der Gegenwart. Teil 3, Abt. **4**, vol. **2**, II pp. I-IV, 176-332, Leipzig & Berlin.

HEYMONS, R. — 1922 — Peripatiden, Bärtierchen und Zungenwürmer. Nachtrag zum 2. Bande von Brehms Tierleben (Peripatiden p. 2-4), Leipzig.

HEYMONS, R. — 1928 — Über Morphologie und verwandtschaftliche Beziehungen des Xenusion auerswaldae Pomp. aus dem Algonkium. Zeitsch. Morphol. Ökol. der Tiere, **10**, 307-329, Berlin.

IHERING H. v. — 1907 — Archhelenis und Archinotis, ges. Beiträge zur Geschichte der neotropischen Region, Leipzig.

MARCUS, E. — 1924 — Zur Frage der Tierverbreitung und pazifischen Landverbindung. Erg. Fortschr. Zool., **6**, 1-26, Jena.

MARCUS, E. — 1933 — Tiergeographie, Handb. d. geograph. Wissensch., Allg. Geogr. **2**, 81-166, t. 7-11, Potsdam.

POMPECKJ, J. F. — 1927 — Ein neues Zeugnis uralten Lebens. Palaeont. Zeitsch., **9**, 287-313, t. 5, Berlin.

REMANE, A. — 1932 — Archiannelida, Tierwelt d. Nord- und Ostsee, Teil VI a, p. 1-36, Leipzig.

WEBER, M. — 1902 — Der indoaustralische Archipel und die Geschichte seiner Tierwelt, Jena.

WEGENER, A. — 1929 — Die Entstehung der Kontinente und Ozeane, 4. Aufl. Braunschweig.

ZACHER, F. — 1933 — Onychophora. Kükenthal & Krumbach, Handb. der Zoologie, **3**, 2. p. 79-138, Berlin & Leipzig.

———o———

ORCHIDACEAS DO HERBARIO GERAL DO MUSEU GOELDI, BELÉM DO PARÁ

REVISTAS E DETERMINADAS POR

F. C. Hoehne

Trabalho do Instituto Biologico de S. Paulo

A nosso pedido, o dd. Director do Museu Goeldi, de Belém do Pará, nos cedeu o herbario das Orchidaceas daquelle instituto, para revel-o do ponto de vista systematico e phytogeographico, visto interessar-nos o material em questão para a monographia deste grupo de Monocotyledones, que desde ha alguns annos vimos preparando. Por tão grande gentileza e prova de confiança apresentamos-lhe aqui os nossos sinceros agradecimentos.

Para constar, damos, a seguir, os resultados a que chegamos neste trabalho, que nos occupou as horas vagas do mez de Janeiro de 1937. Infelizmente nem todos os exemplares puderam ser identificados com absolucta segurança. Muitos delles estão mal representados e outros, estragados e incompletos.

A relação que segue foi feita seguindo rigorosamente a ordem systematica em que os generos se succedem de accordo com a ultima organisação feita pelo fallecido Professor Dr. RUDOLFO SCHLECHTER, nosso grande amigo e collaborador de muitos annos. Para maior facilidade, as especies estão distribuidas nos generos pela ordem alphabetica.

DIANDRAS

Selenipedilum palmifolium REICHB. FIL.

N.º 56 — J. HUBER, Belém, 14-9-1895. Sem outras indicações.

1.673 — M. GUEDES, Ariboquinha, vulgo: «Baunilha de Caçador», 9-8-1899.

9.570 — Belém, Caraparú, matta, 15-8-1908. (Pelo DR. J. BARB. RDR. JUNIOR dado como *S. Isabelianum* RDR.). Vulgo: «Baunilhasinha».

9.676 — Pessoal do Museu Goeldi, Caraparú, matta, Belém, 22-9-1908. Vulgo: «Baunilha do Caçador».

Observ.: A determinação feita pelo indicado, existe nos tres primeiros numeros. De *S. Isabelianum* BARB. RDR. este se distingue, porém, pelo revestimento piloso-glanduloso da inflorescencia.

Phragmopedilum Klotzschianum ROLFE. (Syn.: *Selenipedilum Klotzschianum* REICHB. F.).

N.º 13.450 — ULE, n.º 8.378, Rio Branco, Surumú, Set. 1909. Citado nos trabalhos deste citado botanico do Museu de Dahlem, Berlim.

13.627 — ULE, n.º 8.569, Rio Cuquenan, Pará, 12-1910.

Observ.: Planta de 20-30 cms. de alt. com folhas na base, distichas, lanceo-lineares, de 25 cms. de compr.; Haste de 20-30 cms. com 1-3 flores na extremidade, cujos petalos, mais longos, caem para baixo e são estreito-lineares.

MONANDRAS

Habenaria Kuhlmannii SCHLTR. (in «Beitr. zur Orchideenk. des Amazonas-Gebietes», do «Beihefte zum Bot. Centralbl». vol. XLII (1925) Abt. II pag. 72).

N.º 3.434 — A. DUCKE, Campos do Almeirim, Pará, 8-4-1903.

3.512 — IDEM, Arrayollos, campo geral, 23-4-1903.

Observ.: Planta do porte da *H. pauciflora* REICHB. FIL. e sem divida apenas uma forma mui pouco distincta, pelas folhas menos desenvolvidas e flores um pouco maiores. Graças a isso, com muita razão confundida com aquella, neste herbario.

Dada a grande abundancia de especies de *Habenarias* que existem no Pará e Amazonas, causa-nos admiração que apenas esta exista no herbario do Museu Goeldi. Acreditamos que muitas outras devem estar representadas, que não nos foram enviadas, o que lastimamos, tanto mais por serem justamente essas as que mais nos interessavam no momento.

Pelo menos umas vinte temos registrado, de lá, na bibliographia de que dispomos, e não duvidamos que ellas devem ser mais numerosas, dadas as condições excepcionalmente propicias para o seu desenvolvimento.

Triphora Duckei SCHLTR. (in «Beiheft. zum Botan. Cenrtalb.» sob o de «Beitr. zur Orchideenk. Amazonas-Gebietes «pag. 75, do vol. XLII (1925) Abt. II). Cotypo da esp.

N.º 16.987 — A. DUCKE, Lago Salgado, mattas do Rio Trombetas, vegetando no humo com flores roxas, em 9-2-1918.

Observ.: Parece um *Psilochilus,* affim do *P. physuraefolius* REICHB. F. mas é bem menor. Vimos a descripção original de SCHLECHTER e acreditamos que este se equivocou nessa classificação, porque elle mesmo declarou, em outro trabalho, que o genero *Triphora* se distingue pelas flores axillares, e esta planta as tem terminaes. Mas temos sómente um pedaço, com uma unica flôr, que não nos abalançamos a dissecar para não prejudicar o material.

No porte a planta se assemelha mais a um *Physurus,* mas a flôr não tem esporão.

Vanilla aromatica Sw.?

N.º 9.608 — St. Isabel, Belém, colhida pelo pessoal do Museu, 8-1908.

Observ.: O material, sem flores, não pode ser identificado com segurança.

V. bicolor LINDL.

N.º 1.864 — JACQUES HUBER, Arunã, beira do rio, 28-2-1900.

Observ.: A determinação como *V. aromatica* Sw. não está certa. O labello aqui é mais largo, no centro interno bastamente villoso-estoposo e na parte anterior a columna tem o caracteristico revestimento hirsuto que não se constata nesta referida especie. A parte anterior do labello, em triangulo obtuso, é outro caracter peculiar da especie que indicamos como sendo a propria.

V. purusara BARB. RDR. JNOR. (Nom. nudum)?

N.º 4.721 — J. HUBER, Bom Lugar, Rio Purús, 5-1904.

Observ.: O material se compõe de um ramo com tres folhas e um racimo com as flores retiradas e uma flôr solta, sem o ovario. Estes dados effectivamente demonstram, entretanto, que se trata de uma especie não descripta na «Fl. Br.» de MARTIUS e em outros trabalhos mais recentes, de que dispomos. Mas não sabendo se com o nome supra indicado esta especie foi publicada e sendo escasso demais o material, deixamos de fazer a diagnose.

As folhas são ob-ovaladas, attenuadas para a base e no apice abruptamente acuminadas em ponta obtusa; medem 15-18 cm. de comp. sobre 3,5-5,5 cm. de largo e ficam sobre peciolo de 1 cm. de comp.; o racimo é axillar e tem dois cm. de comprimento e signaes de seis flores. A flor incompleta, junta, mede 8 cm. de comp. e a largura dos petalos é de 5 mm.; o labello não pôde ser examinado por ser um tanto enrolado e por não convir estragal-o, pois é unico; mas no seu apice, na parte interna, notam-se franjas que partem de um callo central que se recurva fortemente para trás. Este ultimo detalhe não vem referido para nenhuma das especies de que temos descripções.

V. uncinata HUBER (Não descobrimos a diagnose desta especie, porque não consta do «Index Kewensis»).

N.º 7.392 — J. HUBER, cultivada no Horto Botanico do Museu Paraense, fl. em 8-1906, vinda do Rio Purús, de onde foi trazida pelo Dr. A. GOELDI em data ignorada.

Observ.: Este material, que se compõe de uma flôr e uma folha destacados, não trás nenhuma referencia sobre a côr da primeira e forma do racimo. Pelos dados que fornece verificamos, entretanto, que se trata, provavelmente, da *Vanilla Ribeiroi* HOEHNE, descripta nos trabalhos botanicos da Commissão Rondon, Parte I, no anno de 1910, do Rio Jaurú, em Matto Grosso, caso as flores sejam alvas e o interior do labello amarello chromo. As dimensões são exactamente as mesmas, e assim toda a estructura dos segmentos, bem como das folhas.

No caso que o nome citado para o material tenha sido publicado antes, esta ultima especie cahirá na synonymia; mas se o contrario se deu, permanecerá e synonymo será considerado aquelle. Acreditamos, entretanto, que se trata de um nome nú, isto é, não descripto nem publicado.

Cleistes rosea LINDL.

N.º 11.644 — A. DUCKE, Parintintins, Campo Grande, em 8-5-1911. Pelo Sr. B. RODRIGUES JUNIOR, rotulada como nova especie: *Pogonia villabellae,* provavelmente inedita.

11.906 — A. DUCKE, Ariramba, Campos, em 5-7-1912.

16.158 — A. DUCKE, Gurupá, Pará, 11-5-1916.

Observ.: Planta terrestre dos campos naturaes humidos, com 50-100 cm. de altura e folhas oblongo-lanceoladas sesseis e carnosas, pouco patentes, na base amplexicaules, roxo-polvilhadas; flores axillares ou quasi terminaes, roseas, de 7 cm. de comp.

Epistephium petiolulatum HUBER, (in «Bol. Mus. Paraense» vol. VII (1913) p. 287).

N.º 12.283 — A. DUCKE, Caquetá, Cerro do Cupaty, no alto, entre pedras, 24-11-1912.

Observ.: Este material se compõe de um ramo da inflorescencia e apresenta apenas botões. A sua affinidade com o *E. parviflorum* LINDL. é bastante grande.

Não encontramos neste herbario o material do *E. Duckei,* HUBER descripto na mesma occasião pelo autor referido.

Epistephium spc. ?.

N.º 2.528 — Dr. ARROJADO LISBÔA, Grajahú, Maranhão, em 8-8-1909.

Observ.: O material se compõe de uma inflorescencia destacada. A julgar pela forma dos petalos, sepalos e labello, pode ser de facto uma nova especie conforme a determinou BARB. RODRIGUES JOR., chamando-a: *E. Arrojadoanum;* mas

nada se pode apurar com tão escassos elementos. Provavelmente a especie em apreço tambem não foi publicada nem descripta. E' possivel que tambem seja o *E. Duckei* HUBER.

Elleanthus aureus REICHB. FIL.

N.º 6.524 — ULE n.º 6.674, Cerro del Escaler, Perú, 1.400 m. s. m., em Fev. 1903.

Observ.: O estrobilo de flores, mesmo neste material secco e velho, ainda se mostra amarello-aureo, é bastante basto e mede 4 cm. de comp. sobre 2,5 cm. de espessura transversal.

E. furfuraceus REIBHB. FIL.

N.º 13.635 — ULE n.º 858, Roraima, a 2.100 m. s. m. Janeiro de 1910.

Observ.: Planta de porte baixo, com folhas relativamente estreitas e flores laxamente distichas, pallidas, arroxeadas.

E. oliganthus REICHB. FIL.

N.º 6.535 — ULE, n.º 6.690, Cerro de Ponassa, Perú, a 1.400 m. s. m., em 3-1903.

Observ.: Racimo floral longo, com bracteas distichas e muito laxas, lanceo-assovelladas; flores alaranjadas.

Sobralia crocea REICHB. FIL.

N.º 9.837 — J. HUBER, in Horto Botanico do Museu Paraense, 6-11-1908.

Observ.: Esta planta naturalmente veio do Perú e foi cultivada em Belém do Pará. BARB. RDR. JUNIOR a determinara como sendo *Sobralia pumila* ROLFE, esquecendo-se de que esta especie é de menos de 15 cm. de altura, emquanto o material apresenta hastes de 30-60 cm. de altura. As flores não têm mais do que 3 cm. de comp. e são amarellas.

A especie não vem referida nos trabalhos de SCHLECHTER sobre as Orchidaceas dos collectores botanicos: KUHLMANN e HUEBNER.

S. liliastrum LINDL.

N.º 895 — MANUEL GUEDES, Rio Maracá, Igarapé do Lago, em 8-1898. Nome vulgar: «Baunilha do Caçador» (Provavelmente confusão com o citado *Selenipedilum,* do mesmo collector).

8.028 — A. DUCKE, região do alto Ariramba, campina-rana, sobre rochas, em 20-11-1906.

12.284 — A. DUCKE, Caquetá, Cerro do Cupaty, entre rochas, 24-11-1912.

13.452 — E. ULE, n.º 8.380, Rio Branco, 9-1909.

14.855 — A. DUCKE, Juramacarú, campinas pedregosas, nos rochedos, 28-9-1913.

14.940 — A. DUCKE, Alto do Ariramba, sobre pedras proximas da cachoeira, em 8-10-1913.

16.659 — A. DUCKE, Porto de Moz, Campo Grande, 25-12-1916.

Observ.: Esta bella *Sobralia,* que encontramos em grande profusão nas cercanias do Salto Augusto, do Rio Tapajóz, quando descemos o Rio Juruena, em 1912, parece preferir as rochas junto ás catadupas, onde recebe os borifos da agua pulverisada. As suas flores alvo-amarelladas no centro, têm o labello muito vistoso; todavia os sepalos e petalos se recurvam tanto que perdem o effeito.

S. sessilis LINDL.

N.º 2.161 — J. HUBER, Horto Botanico do Museu Paraense, Belém, 31-7-1901.

2.654 — TRESLING, n.º 316, Surinam, Rio Maio, em 14-8-1908.
4.051 — P. DUSÉN, Utinga, Caraparú, data ignorada. Caule ramificado.

Observ.: O revestimento curto-hispido do caule e das bainhas e bracteas, como as folhas 9-nervuladas e flores com labello liso no disco, são caracteristicos desta especie.

O Sr. BARB. RDR. JUNIOR, pretendeu dar este material como de *S. dichotoma* RUIZ ET PAV. cujas flores são dadas como sendo axillares. PULLE e HUBER, já haviam, aliás dado a denominação certa.

S. stenophylla LINDL.

N.º 13.451 — ULE, n.º 8.379, Surumú, Rio Branco, Serra do Mairary, a 900 m. s. m., em Set. 1909. (Det. pelo collector e mencionada na descripção que fez da região do Roraima.)

Observ.: Neste material, que confere perfeitamente com a descripção, no que refere ás folhas, porte e aspecto geral, as inflorescencias são axillares e não terminaes como se deduz que devem ser segundo a chave exposta para as especies na «Flora Brasiliensis».

Craniches candida COGN,

N.º 1.844 — P. DUSÉN, Serra do Itatiaya, Rio de Janeiro, em 17-5-1902.
2.534 — E. SNETHLAGE, Serra do Ibiapaba, S. Paulo, em 6-10-1910. (Pelo Sr. BARB. RDR. JUNIOR dada como typo de nova especie: *C. cearaensis,* por motivo que não conseguimos descobrir.)

Observ.: Esta planta, commum nas caapoeiras e matagaes das regiões mais frescas de todo o Brasil meridional, é frequente aqui em S. Paulo.

Ponthieva Sprucei CONG.

N.º 6.280 — ULE, n.º 6.419, Pongo de Cuinarachi, Dep. de Loreto, Perú, 9-1902.

Observ.: Planta pequena de 5-10 cm. de altura; muito parecida com *Craniches,* mas com flores cujo labello é trilobado, por fora, como a propria rhachis revestidas de pellos glandulosos. Folhas rosuladas na base da haste e reduzidas nesta, gradativamente, até chegarem á forma de bracteas na extremidade superior. Devido á grande semelhança, BARB. RDR. JUNIOR, applicou-lhe o nome de *Craniches elegans* BARB. RDR. JUNIOR, que, segundo nos parece, felizmente, não foi publicado.

Cyclopogon bicolor (KER.) SCHLTR.

N.º 277 — s/ind. — Rio de Janeiro, s/d.

Observ.: Especie bem caracterisada no genero, pelas folhas mui tenras, longamente pecioliforme attenuadas, com flores espaçadas e pequenas.

Quanto á procedencia, não podemos dizer, entretanto, se Rio de Janeiro a indica, ou se se refere á dispersão geographica. Acreditamos que seja a primeira hypothese a que deve valer, porque a especie é frequente no Brasil meridional.

C. densiflorus SCHLTR. (in «Rep. Sp. Nov., Beiheft zu Band VIII (1921), pag. 59).

N.º 6.180 — ULE, n.º 6.313, Tarapoto, Perú, em 9-1902.

Observ.: Planta robusta entre as congeneres e bem caracterisada pela haste floral inteiramente revestida de bainhas acuminadas puberulas e glanduloso-viscosas, racimo basto secundifloro, fl. alvas.

Sarcoglottis Allemanii BARB. RDR. ?

N.º 280 — Bahia, s/ind.

Observ.: Este exemplar, aliás optimamente preparado e conservado, é, segundo se deprehende da nota annexa ao rotulo, identificado como *Stenorrhynchus longifolius* COGN. que este mesmo autor, no vol. III, VI da «Fl. Br.» de MARTIUS, considerou synonymo do *St. Hasslerii* CGN. Com esta especie o material não tem, entretanto, nada em commum; é, ao contrario, uma legitima *Sarcoglottis* e, provavelmente a especie em apreço. Deixamos a duvida por ser a descripção de BARBOSA RODRIGUES incompleta no que refere ás dimensões das flores e seus detalhes.

S. grandiflora (HOOK.) KL.

N.º 2.920 — BLANCHET, n.º 3.349, ex Herb. DELESSERT; Bahia, s/data.

Observ.: BARB. RODR. JUNIOR classificou este material como de nova especie de *Stenorrhynchus,* mas este nada tem que ver com o genero. Na «Fl. Br.» encontramos, aliás, o numero de BLANCHET, sob *Stenorrhynchus orchioides* e egualmente sob *Spiranthes acaulis* COGN. var. *grandiflora* LINDL. que é synonymo de *Sarcoglottis grandiflora* (HOOK.) KL.

Quem examinar a planta superficialmente leva a convicção que deve ser a *Sarcoglottis homalogastra* (REICHB. FIL. & WARM.) SCHLTR., porque, as flores, fortemente curvadas, lembram mais a estampa desta que de qualquer outra especie. Mas faltam-lhe os longos pellos dados para esta especie e bem assim o tamanho, pois tudo aqui é menor e o revestimento de pellos, curto, um tanto crespo.

Neobartlettia guianensis SCHLTR. (in «Fedde — «Repertorium Spec. Nov.» vol. XVI (1920) p. 441).

N.º 4.272 — J. HUBER, alto do Rio Purús, na matta, em 7-4-904.

Observ.: Este material que o Sr. BARBOSA RODRIGUES JUNIOR havia rotulado como *Sobralia palmifrons* BARB. RODR. JUNIOR é, aliás, a segunda especie do genero em apreço, cujo typo o pae deste botanico descrevera como *Palmorchis sobralioides* BARBOSA RODRIGUES interpretando com muito acerto a differença generica em face de *Sobralia.* Mas, segundo SCHLECHTER, esse nome não pôde ser conservado como devia, por haver o ultimo mencionado botanico calcado a sua descripção sobre a especie *Palmorchis pubescens,* que o Prof. COGNIAUX. considerou egual com *Sobralia,* dando-lhe o nome de *S. pubescens* (BARB. RDR.) CGN., que não se sabe se é tambem pertencente a este genero *Neobartlettia* ou effectivamente uma *Sobralia.* Isto só poderá ser resolvido depois que se conseguir material della.

Não tendo encontrado referencias no «Index Kewensis», acreditamos que o nome proposto por BARB. ROD. JUNIOR é nom. nudo.

Physurus densiflorus LIDNL.

N.º 1.626 — A. DUCKE, Ceará, na Serra de Maranguape, proximo da Rajada, em terrenos pantanosos do mangue.

Observ.: Planta robusta para o genero, com folhas esparsas pelo caule de 8-10 cm. de comp. sobre 2,5-4 cm. de largura, avermelhadas; flores em espigas curtas, terminaes, aspero-puberulas.

P. roseus LINDL.

N.º 4.612 — J. HUBER, Monte Verde, Rio Purús, 1-5-1904.

4.686 — Idem, Bom Lugar, Rio Purús, 25-4-1904.

5.662 — E. ULE, n.º 5.742, Rio Juruá, Juruá-Mirim, 8-1901.
5.695 — Idem, n.º 5.786, Juruá-Mirim, em 8-1901.

Observ.: Esta especie, referida para o Estado de Minas Geraes, parece ter sido identificada agora pela primeira vez para a região amazonica. O ultimo numero tem o material partido e presente apenas uma extremidade do racimo floral ainda em estado novo.

Stelis Herzogii SCHLTR. (in «Fedde — Repert. Spec. Nov.» vol. XII (1913) p. 484).

N.º 1.525 — A. DUCKE, Bico Alto, Serra do Baturité, parte alta de Ceará, 12-8-08.

Observ.: Esta especie descripta como de Santa Cruz da Bolivia, pelo citado Dr. R. SCHLECHTER, caracterisa-se pelos caules mais altos que o comprimento das folhas e por dar 4-5 racimos de flores. As flores ficam muito juntas. O caule mede 4-7 cm. de comp. e as folhas, um tanto espathulares, tem de 4-6 cm. de comp. sobre 0,7-1 cm. de largo na parte superior; a parte inferior é attenuada em pseudopeciolo. Os racimos medem 2-3 cms. e as bracteas que sustentam as flores são pequenas. Como foi que o Dr. BARB. RDR. JUNIOR identificou o material com *Stelis spathulata* POEP. ET ENDL. que pertence á Secção «Distichae», onde as bracteas são sempre grandes ou pelo menos do comprimento das flores, não podemos saber.

S. paraensis BARB. RODR.

N.º 7.799 — J. HUBER, Peixe Boi, matta, 20-11-1906.

Observ.: O material typo da especie foi descripto como do Rio Capim, Estado do Pará.

Stelis ou *Pleurothallis* (mat. incompleto, indeterminavel).

N.º 1.663 — A. DUCKE, Serra do Maranguape, Ceará, em 14-9-1908.

Observ.: O material, assaz interessante no seu aspecto vegetativo, apresenta caules robustos, revertidos integralmente com bainhas frouxamente amplectantes, que lhes dão semelhança com algumas Pontederias depois de seccas. As inflorescencias, racimosas e fasciculadas, são mais curtas do que o limbo da folha, mas não têm mais nenhuma flor para permittir a identificação do genero.

Pleurothallis Grobyi LINDL.

N.º 5.249 — E. ULE, n.º 5.277, Rio Juruá, Bom Fim, em 11-1900.

Observ.: As folhas aqui são um pouco mais estreitas do que costumam ser nesta especie, aliás bastante variavel, e confundivel com a *P. marmorata* COGN. e affins.

P. mentosa COGN.

N.º 5.684 — E. ULE, n.º 5.772, Rio Juruá, em 9-1900.

Observ.: Neste material só existe uma flor, ainda em botão; todavia a especie é bastante caracterisada pelo mento formado pelos sepalos lateraes e pela forma das suas folhas. Estas são aqui um pouco mais largas do que costumam ser.

Vem mencionada ainda no trabalho do Dr. R. SCHLECHTER, feito sobre o material colligido pelo Sr. GEORGE HUEBNER, de Manáos, como recolhido no Paraná do Limão.

P. ruscifolia R. BR.?

N.º 1.660 — A. DUCKE, Serra do Maranguape, Ceará, em 14-9-1908.

Observ.: Material sem flores, misturado e concrescido com um *Polypodium*, de folhas do mesmo tamanho, mas agudas e negras depois de seccas.

P. semperflorens LINDL.

N.º 1.821 — M. GUEDES, do Meseu Paraense, Jupatitúba, em 19-12-1899.

Observ.: Material egualmente sem flores, só com folhas e inflorescencias despidas de flores. Concorda, entretanto, perfeitamente, com a especie em apreço.

P. serrifera LINDL.?

N.º 15.178 — A. DUCKE, Obidos, Rio Branco, em 17-12-1913.

Observ.: Igualmente deficiente. O que existe concorda com a especie em questão.

P. undulata POEPP & ENDL.

N.º 13.633 — E. ULE, n.º 8.577, Roraima, em 1-1910.

Observ.: O material tambem não tem flores. Os orgãos vegetativos são, no emtanto, muito caracteristicos.

Como vemos, o material de *Pleurothallis* é quasi completamente inaproveitavel devido á sua deficiencia de elementos para se identificarem as especies. Acreditamos que o Herbario deve ter muitas outras, que não vieram ter ás nossas mãos.

Octomeria parviflora ROLFE.

N.º 13.632 — E. ULE, n.º 8.574, Roraima, á 2,500 m. s. m., em pedras, 1-1910.

Observ.: Esta especie não figura na «Fl. Br.» mas foi descripta posteriormente nos «Transact. of. the Linnean Society, Botany». O material não tem as flores.

Microstylis Parthoni REICHB. FIL.

N.º 1.678 — A. DUCKE, Ceará, na Serra do Maranguape, em 14-9-1908.

Observ.: Material sem flores, mas fructificado em estado adiantado.

Epidendrum alsum RIDLEY.

N.º 13.631 — E. ULE, n.º 8.573, Roraima, sobre rochas, fl. amarello-purpurascentes, a 2,500 m. s. m., em 12-1909.

Observ.: Planta do porte de *E. carnosum,* mas muito mais espessa, com caule ramificado, grosso e folhas ovaladas na base, longamente amplexicaules. Inflorescencia paniculada, abruptamente recurvada. Flores pequenas de menos de um cm. de diametro. E' um verdadeiro typo de grandes altitudes.

E. caespitosum BARB. RDR.

N.º 8.004 — A. DUCKE, região do alto Ariramba, em 20-12-1906.

8.456 — A. DUCKE, Campos da E. de Faro, baixo Amazonas, 21-8-1907.

9.116 — A. DUCKE, idem, em 12-12-1907.

10.958 — A. DUCKE, Campina do Achipicá, baixo Rio Trombetas, 20-9-1910.

15.619 — A. DUCKE, Rio Tocantins, Campina do Arumaterra, 4-1-1915.

Observ.: Porte parecido com o do *E. ellipticum,* mas flores bastante differentes. Labello com limbo largo, tetralobado, obtuso nos cantos e como os sep. e pet. esverdeados, raro um tanto pintalgado de vermelho. Infelizmente tudo está sem flores, e é possivel que haja mistura de material.

E. ciliare L. var. *viscidum* LINDL.

N.º 10.764 — FRANCISCO LIMA, Rio Gurupy. Matta, Pará, 20-1-1910.

Observ.: Esta mesma especie é por nós cultivada na collecção particular, vinda da Venezuela. Dá-se bem aqui em S. Paulo, florescendo todos os annos.

E. discolor BENTH.

N.º 5.248 — E. ULE. n.º 5.276, dos arredores de Manáos, epiphyta, em 7-1900.

Observ.: Pelo que parece, é esta uma das menores especies do genero da secção de folhas distichas em caules longos. As folhas aqui são pequenas e toda a planta não tem mais do que de 3-7 cm. de altura e apenas uma a duas flores entre as ultimas folhas, cujo labello é simples ovo-cordado e com disco na sua base, provido de dois minusculos callos e atravessado de nervuras que, depois de seccas, se salientam muito.

SCHLECHTER a mencionou como do Rio Mocura, colhida por GEORGE HUEBNER. O Sr. BARB. RODR. JUNIOR pretendeu fazer della nova especie, applicando ao material o nome de *E. manauarae* BARB. RODR. JUNIOR que felizmente parece que ficou inedito.

E. elongatum JACQ.

N.º 1.625 — A. DUCKE, Serra do Maranguape, Ceará, em 14-9-1908.

13.191 e 13.449 — E. ULE, respectivamente n.º 8.109 e 8.374, do Rio Branco, em 9-1909.

Observ.: Para o material do n.º 1.625, as flores são indicadas como encarnadas. Se isso é real, deve tratar-se de alguma variedade regional ou de flores velhas. Os numeros seguintes dão as flores como purpurescentes, portanto roseo-arroxeadas.

E. fragrans SW.

N.º 10.116 — E. ULE. n.º 9.265, Rio Jamanchim, em 17-11-1908.

10.068 — Dra. E. SNETHLAGE, Acre, Amazonas, 10-1911.

Observ.: Esta especie tem uma área de dispersão geographica muito ampla. Ella apparece até St. Catharina e se extende para o norte até a Venezuela.

SCHLECHTER a mencionou para o material colligido pelo Sr. G. HUEBNER, no Amazonas.

E. imatophyllum LINDL.

N.º 4.715 — J. HUBER, Rio Purús, Bom Lugar, em 5-1904.

2.690 — TRESLINO, n.º 419. Sem indicações.

Observ.: Planta muito bella, que vegeta exclusivamente em formigueiros, sendo as formigas que preparam o meio para a germinação mais facil das sementes, conforme temos referido em trabalhos da Commissão Rondon e no «Album de Orchidaceas Brasileiras». Encontramol-a varias vezes em Matto Grosso, recebemol-a da Bahia e SCHLECHTER a mencionou tambem do material colligido pelo Sr. GEORGE HUEBNER, nas cercanias de Manáos, onde tambem KUHLMANN a encontrou.

E. Imthurnii RIDLEY

N.º 13.629 — E. ULE. n.º 8.571, Roraima, sobre rochas a 2.500 m. s. m., em 12-1909.

Observ.: E' esta outra especie do porto do *E. carnosum,* mas com folhas lineares e curtas, com bordos revolvidos. A superficie das bainhas se apresenta estriolada e tenuemente semeada de pregas verruciformes. Este detalhe não consta, entretanto, na descripção exposta na «Fl. Br.» O collector diz que ella vegeta sobre as rochas e que as flores são purpureas claras e relativamente pequenas.

E. latilabre LINDL.

N.º 2.649 — TRESLINO, n.º 297, Manáos, em 6-8-1908.

Observ.: SCHLECHTER a referiu do material de GEORGE HUEBNER, da mesma região.

E. nocturum JACQ.

N.º 9.446 — BAKER, Rio Irituria, Pará, em 7-7-1908.

Observ.: Especie assaz commum e bem caracterisada. SCHLECHTER a citou sob o *E. Spruceanum* LINDL. com que tem semelhança e com que foi confundida neste herbario pelo Sr. BARB. RODR. JUNIOR. O labello desta ultima especie tem os lobos lateraes do labello denticulados.

E. psilanthemum LOEFGREN (in «Arch. Jard. Bot. Rio de Janeiro» vol. II (1917) p. 57, tab. XXIX).

N.º 12.442 — Dra. E. SNETHLAGE, Rio Jary, St. Antonio da Cachoeira, sobre rochas s/data.

Observ.: O material se compõe apenas de uma inflorescencia destacada da planta, mas como esta é sempre muito caracteristica, por nascer ao lado do pseudo-bulbo esteril e desenvolvendo-se este depois della, nenhuma duvida temos sobre o ser a mesma planta que KUHLMANN alli colheu e que LOEFGREN descreveu com este nome. BARB. RODR. JUNIOR tinha lhe applicado o nome de *E. pulchrum,* considerando-a nova.

E. Randii (BARB. RDR.) SCHLTR. (Actualmente do genero *Encyclia).*

N.º 15.050 — A. DUCKE, Obidos, Sapukuá, Amazonas, em 25-10-1913.

Observ.: Planta de flores vistosas, com sepalos e petalos castanhos marginados de amarello e labello de limbo grande, inteiro e branco, com disco estriado de roseo.

E. Schomburgkii LINDL.

N.º 3.778 — Barcarena, S. Sebastião, Estado do Pará, em 7-9-1903.

Observ.: Planta do porte do *E. floribundum,* com pedunculo longo como no *E. imatophyllum,* com flores grandes e vermelhas, de 4-5 cm. de diametro, em pseudo-umbella terminal. SCHLECHTER menciona esta especie do material de GEORGE HUEBNER, do Lago do Limão.

O material tráz o nome de *Epidendrum barcarenaense* BARB. RODR. JUNIOR nome e especie segundo nos parece, felizmente, ineditos.

E. tigrinum LINDL.

N.º 13.638 — E. ULE. n.º 8.586, Roraima, em 1-1910.

Observ.: Quanto ás flores, pouco differente do *E. variegatum* HOOK. que vem citado em seguida. Mas o pseudo-bulbo é cylindrico, de 30-40 cm. de altura e termina com tres folhas grandes e espaçadas entre si, linear-oblongadas, obtusas e na base contrahidas em pseudo-peciolo.

Sendo a especie seguinte assaz variavel, parece-nos que a presente talvez seja apenas uma forma local della.

E. variegatum HOOK.

N.º 10.950 — A. DUCKE, parte baixa do Rio Trombetas, campinas do Achipicá, em 20-9-1910.

14.916 — A. DUCKE, Alto Ariramba, Cachoeira, 5-10-1913.

Observ.: Esta especie é muito dispersada em todo o Brasil e vem referida em quasi todas as collecções aqui feitas. Como dissemos, assaz variavel.

E. violascens RIDLEY

N.º 13.628 — E. ULE, n.º 8.570, Roraima, a 2,500 m. s. m., em pedras.

Observ.: Eis ahi uma especie pygmea, de porte semelhante ao do *E. elongatum,* reduzido a 1/50, com inflorescencia paniculada de 5-8 cm. de comprimento e quasi metade de largura e flores arroxeadas pequenas.

E. viviparum LINDL. var. *multiflorum* HOEHNE (n. v.)

Distincta do typo: 1.º por ter maior numero de flores nos racimos e 2.º pelo labello com lobo mediano mais largo no meio e os lateraes eroso-denticulados em suas margens e bem maiores.

N.º 9.325 — J. HUBER, Peixe Boi, Belém do Pará, cult. no Horto Botanico do mesmo Museu Paraense, 4-1908.

Obser.: Como frisámos, variedade bastante differente do typo e, talvez, digna de ser considerada especie autonoma. O material, infelizmente, composto de pseudobulbos isolados que não permittem precisar o espaço que entre elles medeia no rhizoma, não permitte fazer o estudo completo.

O typo da especie encontramos nas cabeceiras do Rio Juruema, em Matto Grosso, no anno de 1911, conforme se vê do nosso trabalho publicado pela Commissão Rondon, onde tambem vem illustrado. O rhizoma forma alli longos pseudo-caules que trepam pelas arvores ou se emmaranham constituindo montes cheios de raizes adventicias. As flores são alvo-esverdeadas e bem vistosas.

E. Weddellii LINDL.

N.º 1.524 — A. DUCKE, Ceará, Serra do Baturité, Bico Alto. s/d.

Observ.: Conheciamos esta planta de Minas Geraes, das serras rochosas mais altas, onde vegeta em Vellosiaceas e outras arvores rupicolas em altitudes superiores a 1.800 m. s. m. As flores que alli vimos são roxo-escuras, algo avermelhadas. Mas DUCKE, deu as deste material, como roxo-encarnadas. O exemplar é magnifico porque tem uma inflorescencia ramificada e não racimiforme como a conheciamos.

E. yatapuense BARB. RDR.

N.º 12.409 — A. DUCKE, Rio Tarumá, campina cerrada da terra firme 22-12-1912.

12.411 — Idem, mesma localidade e mesma data.

Observ.: Pelo seu porte recorda esta especie do genero *Lanium* e é, certamente, a transição para elle ou um hybrido natural entre os dois generos. As flores são porém de *Epidendrum* e não de *Lanium.* Os caules, ligeiramente espessados para o apice, onde ostentam tres folhas um tanto espaçadas entre si, partem de um rhizoma ramificado. As inflorescencias são terminaes e paniculadas. As pollineas tambem são compressas e não roliças como em *Lanium.*

BARBOSA RODRIGUES JUNIOR equivocou-se, portanto, ao pretender fazer della especie nova de *Lanium* e seu pae é quem teve razão em descrevel-a no genero *Epidendrum.* Felizmente, parece que o nome *Lanium obidoense,* que propoz, nunca foi publicado, nem feita a descripção.

O material de n.º 12.411 é um pouco differente no que refere ás folhas. Estas são mais largas e o porte da planta é mais esguio, mas nas flores nada differe.

SCHLECHTER no «Beitr. zur. Orchideenflora Amazonas», do «Beihefte zum Bot. Centralblatt», vol. XLII (1925) pag. 103, refere-se a esta especie como encontrada por GEORGE HUEBNER, no Rio Mocura, do Amazonas, sob n.º 77.

Epidendrum spc. indeterminavel.

N.º 11.082 — A. DUCKE, Manáos, Amazonas, no Umirisal, em 16-11-1910.

Observ.: Apenas uma ponta de caule sem flores nem raizes.

Cattleya Lawrenceana REICHB. FIL.

N.º 13.639 — E. ULE. n.º 8.588, Roraima, a 1.500 m. s. m., com a nota: flores purpureas, nas mattas de Quadiana, 12-1909.

Observ.: Da secção *unifoliada* das *Cattleyas,* certamente uma das mais dignas de serem cultivadas devido ao grande numero de flores que produz em cada racimo e que apezar disso são grandes e vistosas mesmo quando destacadas. No material presente ha signaes de 10 flores e cada uma mede de 10-12 cm. de diametro e tem sepalos e petalos largos e bem abertos e labello inteiro, oblongado nas margens, um tanto crespo e em tudo rijo carnoso.

C. nobilis REICHB. FIL.

N.º 3.560 — W. KISSENBERT, Rio Araguaya, s/ind. e s/d.

Observ.: Porte de *C. Walkeriana* GARDN. mas flores maiores e labello bem caracteristicamente colorido, com larga mancha amarella no centro e margens roxo-escuras quasi vermelhas. Frequente em Matto Grosso, de onde a temos em cultura.

O material traz apenas duas flores destacadas.

Brassavola amazonica POEPP. & ENDL. (in «Fl. Br.» descripta e estampada como *B. Martiana* LINDL. segundo SCHLECHTER).

N.º 5.892 — ULE, n.º 6.001, Manáos, Amazonas, 12-1901.
9.361 — Belém do Pará (talvez cultivada no Horto), 15-5-1908.
10.106 — Dra. E. SNETHLAGE, Rio Jamanchim, Ilha do Vieira, 14-12-1908.
11.920 — A. DUCKE, Rio Cuminá Mirim, 7-7-1912.

Observ.: Esta especie distingue-se da *B. Martiana* LINDL. por ter muitas flores no racimo. SCHLECHTER insistiu em que esta devia ser a sua *B. multiflora,* mas, como não temos material desta, não podemos affirmar que essa seja de facto differente da presente.

Na «Flora Brasiliensis», o Prof. COGNIAUX reproduziu esta especie sob o nome de *B. Martiana* LINDL. e assim fizemos tambem nós na Parte IV de Botanica da Commissão de Linhas Telegraphicas e Estrategicas de Matto Grosso ao Amazonas. Nós a encontramos nas cercanias do Salto Augusto, do Rio Tapajóz.

B. Martiana LINDL. (Não conforme se acha na «Fl. Br.» dada por COGNIAUX.)

N.º 12.863 — E. ULE, n.º 7.761, Rio Branco, Amazonas, em 6-1909.

Observ.: Na especie precedente já falámos da differença que separa estas duas. Na presente cada racimo deve ter apenas 1-3 flores, de accordo com a descripção original. Acreditamos que esta e a *B. angustata* LINDL. devem ser identicas, mas faltam-nos os elementos para o decidir.

Scaphyglottis prolifera LINDL.

N.º 699 — J. HUBER, Approaga, Rio Capim, em 7-1897.

Observ.: Uma das especies de caules mais baixos. Muito dispersada em todo o Brasil e tambem nas regiões confinantes do norte. Citada e reproduzida na Parte IX (1916) da Botanica, Comm. Rondon, pag. 31, tab. 177, fig. 2, que é um typo extremamente baixo e de logares seccos do cerrado de Matto Grosso.

S. violacea LINDL.?

N.º 14.115 — E. ULE. n.º 9.263, Rio Acre, Amazonas, em 6-1911.

Observ.: Egualmente observada e reproduzida em Matto Grosso, por nós, como se pode ver na ob. cit. na precedente, mesma tabula fig. 1 e pag. 30.

O material presente está privado das flores, emquanto ULE as deu como de côr de palha. Por tal motivo deixamos a interrogação.

Polystachya foliosa REICHB. FIL.
(Syn.: *P. stenophylla* SCHLTR., vide infra)
N.º 8.261 — RODRIGUES SIQUEIRA, Peixe Boi, Pará, em 13-7-1907.

Observ.: Esta especie é bem caracterisada pelas folhas numerosas, estreito-lineares e pelo labello profundamente trilobado, com lobo mediano quasi retangular, espesso e truncado.

Não encontramos razões por que SCHLECHTER, que conhecia bem a especie em apreço do Estado de S. Paulo, a redescreveu sob o nome de *P. stenophylla*, no «Beih. zum Bot. Centralblatt», vol. XLII (1925), Abt. II, pag. 113 entre as «Orchid. Huebnerianae». Quem conhece a grande variabilidade e facilidade de dispersão geographica das especies deste genero, comprehende que ella pode chegar a variar bastante no comp. das folhas.

P. luteola HOOK.
N.º 9.406 — BAKER, n.º 422, Belém do Pará, em 15-6-1908.
217 — Apenas duplicata da anterior.
15.376 — Idem, idem.

Observ.: Planta parecida com a *P. estrellensis* REICHB. FIL. mas flores nitidamente mentosas. Cremos, entretanto, que o principal caracteristico differencial deve ser procurado nas folhas, sempre bem maiores e mais largas. Tambem é citada das mattas do Rio Branco e varias outras localidades, no trabalho de SCHLECHTER, sobre as Orchidaceas colligidas pelos Srs. KUHLMANN e HUEBNER, referido no trabalho citado supra.

P. paulensis REICHB. FIL.
(Syn.: *P. amazonica* SCHLTR., ver infra.)
N.º 9.383 — BAKER n.º 390, Marco, Mar, Pará, em 29-6-1908.

Observ.: Pelo copioso material que possuimos da *P. foliosa* REICHB. FIL. na Secção de Botanica e Agronomia, de S. Paulo, acreditamos que tambem esta especie não passa, provavelmente, daquella, cujo porte varia, na mesma arvore, não raro de 6 e até 20 cm. de altura e cujas folhas podem ter de 4-10 mm. de comprimento. O labello como os outros detalhes das flores são mais ou menos eguaes, nas especies: *P. paulensis* REICHB. FIL. *P. foliosa* REICHB. FIL. e *P. stenophylla* SCHLTR. Em todas ellas o labello é, no lado interno, coberto bastamente de pellos pabulares crespos, que se levantam como capacho.

Veja-se o referido na observ. sob a *P. foliosa* REICHB. FIL.

Galeandra juncea LINDL.
N.º 13.192 — E. ULE, n.º 8.110, Rio Branco, em 9-1909.
3.437 — A. DUCKE, Almeirim, no campo, 8-4-1903.
3.518 — A. DUCKE, Arrayollos, campo geral, 23-4-1903.

Observ.: Planta assaz caracteristica das regiões brejosas do interior e norte do Brasil. Determinada por B. RDR. JUNIOR, como *G. graminea* LINDL. o que é, naturalmente, fructo de um descuido.

Cirrhopetalum medusae LINDL.
N.º 9.329 — J. HUBER, Horto Botanico do Museu Paranaense, cultivada, 4-1908.

Observ.: Planta natural das ilhas de Sunda, segundo SCHLECHTER. Acreditamos que tenha sido introduzida pelo proprio Dr. JACQUES HUBER ou pelo

Dr. GOELDI, para cultivar no citado horto botanico. A especie que KRAENZLIN descreveu do Herb. de Munich, sob o nome de *C. Cogniauxiana* KRAENZL. como do Brasil, deve ser tambem exotica, porque este genero não tem representantes em nosso paiz.

Eulophidium maculatum PFITZ.
N.º 2.004 — A. DUCKE, Guaramiranga, Riacho do Capim, 22-4-1909.
13.193 — E. ULE, n.º 8.111, Serra do Mel, Rio Branco, em 9-1909.

Observ.: Este material vem nos demonstrar quão grande é a dispersão geographica de que algumas Orchidaceas, mesmo terrestres, são capazes de conquistar. Este material veio do Rio Branco, Amazonas; encontramos a especie tambem no extremo sul de Matto Grosso, no noroeste do mesmo Estado, no Rio de Janeiro e tambem em Minas Geraes. Na Africa existe a segunda especie, que SCHLECHTER descreveu ha dois ou tres decennios, sob o nome de *E. Leidienii.*

Eulophia longifolia (H. B. K.) SCHLTR. var. *amazonica* COGN.
N.º 10.125 — Pessoal do Museu, St. Isabel, Caraparú, em 25-12-1908.
13.854 — E. ULE, n.º 8.830, Rio Negro, Manáos, Amazonas, em 5-1910.

Observ.: Tambem esta especie tem uma área de dispersão bem grande.

Cyrtopodium cristatum LINDL.
N.º 3.035 — A. DUCKE, Almeirim, Pará, campo, 11-12-1902.

Observ.: Este material não tem os pseudobulbos, mas tão sómente a inflorescencia destacada. As flores concordam bem com a descripção.

SCHLECHTER citou o *C. parviflorum* LINDL. do material colhido pelo Sr. J. G. KUHLMANN, sem indicação exacta de procedencia; talvez tenha sido colhida egualmente nas cercanias de Manáos. Suas flores são bastante menores e a sua inflorescencia é ramificada.

C. punctatum LINDL.
N.º 9.718 — Pessoal do Museu, St. Isabel, E. de Ferro, 8-10-1908.

Observ.: Uma das especies mais frequentes em todo o Brasil e distinguida por ser sempre epiphyta. Em regra apparece nos espiques das palmeiras ou em arvores bem expostas ao sol.

BARB. RODR. JUNIOR lhe havia affixado o nome *C. paraense* BARB. RODR. JUNIOR, considerando-a especie inédita.

Catasetum discolor LINDL. var. *roseo-album* (HOOK.) MANSF. (masculina).
N.º 9.327 — Cultivada no Horto do Museu Paraense, 4-1908.
11.905 — A. DUCKE, Ariramba, 5-7-1912.
12.666 — A. DUCKE, Colares, 18-8-1913.

Observ.: O collector poz a nota: «Flores verdes claras esbranquiçadas». A pubescencia do interior do labello e os longos cilios que guarnecem os bordos do ostio, caracterisam esta variedade de entre as outras. As flores são realtivamente pequenas. Mencionada tambem por SCHLECHTER, ob. cit. do material colligido pelo Sr. GEORGE HUEBNER.

Cat. cassideum REICHB. FIL.
N.º 11.868 — A. DUCKE, Ariramba, Amazonas, no solo arenoso, flores cheirosas, 29-6-1912.

Observ.: Esta especie foi confundida pelo Dr. SCHLECHTER e outros botanicos, por ignorarem o habito della. De todas as especies que conhecemos, é a unica que, invariavelmente, medra no terreno arenoso humido. Nas cabeceiras e porto do Rio Juruena, encontramol-a em 1909 e tambem em 1911, com as

tres formas das flores, vegetando sempre assim. O cheiro que as flores desprendem recorda o de maçãs bem maduras. Mas SCHLECHTER a referiu como de Campinas das Flores, de perto de Manáos, do material do Sr. GEORGE HUEBNER.

Cat. Lemosii ROLFE.

N.º 9.322 — J. HUBER, cult. no Horto Botanico do Museu Paraense, 31-3-08.

Obser.: Esta planta approxima-se bastante do *Catasetum atratum* LINDL. mas distingue-se pela estructura do labello.

Cat. macrocarpum L. C. RICH. (masculino).

N.º 15.100 — Belém, sem indicações de proc. e collector, 12-1913.

Observ.: O material traz apenas uma inflorescencia destacada, com 17 flores. Tambem SCHLECHTER a referiu do material do Sr. GEORGE HUEBNER, procedente do Rio Mocura.

Cat. saccatum LINDL. var. *eusaccatum* MANSF. (masculino).

N.º 9.323 — J. HUBER, Belém do Pará, cultivada no Horto do Museu Paraense, em 31-3-1908.

Observ.: Flores masculinas, grandes e avermelhadas. Por SCHLECHTER referida como *Catasetum chrystianum* REICHB. FIL. do material de GEORGE HUEBNER, do Igapó do Caiçara.

Stanhopea eburnea LINDL.

N.º 9.326 — Do horto do Museu Paranaense, 4-1908.

Observ.: As flores, completamente alvo-eburneas, com leves salpicos roseos nos lados do hypochylico, proximo á sua base, são caracteristicos que distinguem esta especie. Os sepalos, longo-acuminados, chegam até 8 cm. de comp.

SCHLECHTER, citou a *St. candida* BARB. RDR. do Paraná do Limão, da collecção de HUEBNER, que se distingue pelas flores menores.

Gongora nigrita LINDL.

N.º 4, 42, e 43 — Horto Botanico do Museu Paraense, em 3-9-1936; 11-9-1936 e 12-9-1936.

Observ.: O porte da planta e o comprimento dos racimos variam bastante de um logar a outro. Ella parece ser no norte, tão frequente quanto a *G. Bufonia* LINDL. o é aqui no sul.

Bifrenaria sabulosa BARB. RDR..

N.º 11.675 — A. DUCKE, Lago do Faro, cabeceiras do Infiry ao norte de Tauacoera, Igapó, 19-5-1911.

Observ.: Apenas a inflorescencia destacada, com as flores ainda em botão. Mencionada por SCHLECHTER, do Rio Negro, collectada por HUEBNER. Nós a encontramos no Rio Juruena e mencionamos na Parte IV, pag. 27, da «Bot. Comm. Lin. Tel. Estr. de M. Gr. ao Amazonas».

Koellensteinia graminea (LINDL.) REICHB. FIL.

N.º 9.603 — Pessoal do Museu Paraense, Estr. de Ferro St. Isabel, 8-1908.
15.347 — O. MARTINS, Utinga, Belém do Pará, em 5-1914.

Observ.: SCHLECHTER referiu a especie do material do Sr. HUEBNER, do Rio Mocura, e ainda do mesmo local donde veio o presente, da collecção do Sr. KUHLMANN.

K. Kellneriana REICHB. FIL.

N.º 13.636 — Roraima, E. ULE, n.º 8.528, em 12-1909.

Observ.: Flores pequenas, em espigas laxas de 10-15 cm. de comp. sobre pedunculo de 30 cm. de altura, alvas e com sombras amarellas.

Acacalis cyanea LINDL.
(Syn.: Aganisea coerulea, A. cyanea, A. tricolor, Kochiophyton negrensis, K. coeruleus e K. Hoehne).
N.º 11.772 — A. DUCKE, Rio Jamundá, Cachoeira Grande, em troncos de «Jará», 17-5-1911.

Observ.: Os varios nomes dados a esta planta e bem assim o que nós lhe demos em 1910, na Parte I, Botanica, da Commissão de Linhas Telegraphicas e Estrategicas de Matto Grosso ao Amazonas, são devidos, em grande parte a ter ella sido mal observada e mal descripta na «Fl. Br.» vol. III, VI, sob o nome de *Kochiophyton negrensis* COGN. O seu rhizoma é longo, chega a ter mais de cinco metros de comprimento e se alastra por entre os ramos e troncos de arvores pequenas nas regiões alagadiças, junto ás cocheiras, onde existe sufficiente humidade atmospherica consequente ás brumas que se levantam das quedas da agua. COGNIAUX, ignorando isso e tendo recebido apenas pseudobulbos isolados, da parte do grande ethnographo KOCH GRUENBERG, não teve duvidas em desenhal-a e descrevel-a como planta céspitosa. Veja-se tambem Parte IX Botanica, da Commissão Linhas Telegraphicas e Estrategicas de Matto Grosso ao Amazonas (1916), pag. 23.

Aganisia pulchella LINDL.
N.º 15.352 — A. DUCKE, Utinga (Belém do Pará), Lago Catú, 2-7-1914. (Det. pelo Dr. SCHLECHTER).

Observ.: Esta planta parece ser, no porte, semelhante á precedente, mas as suas flores são pequenas e ficam em racimo apenas de 10-15 cm. de comp. na axilla da bainha.

Aganisia, spc.?.
N.º 2.025 — J. HUBER, Obidos, cult. no Horto do Museu Paraense, fl. 9-5-1901.

Observ.: Este material tinha sido interpretado pelo Sr. BARB. RODR. JUNIOR como *Maxillaria* spc.?. Mas isto não se dá. Trata-se, possivelmente, de uma especie de *Aganisia* ou genero affim, para cuja identificação nos faltam os rhizomas e pseudobulbos. Com uma folha e inflorescencia destacados nada pudemos realisar. Mas adiantemos que o racimo floral em apreço tem 9 lugares e sete flores presentes e que em tudo é maior do que a *Aganisia pulchella* LINDL., que o labello longamente ligulado em sua base, e limbo trilobado, sendo o lobo mediano crespo e recortado nas margens, um tanto conchiforme, tambem contrastam muito com os caracteres dominantes neste genero de que mais se approxima.

Zygopetalum Burkei REICHB. FIL.
N.º 13.637 — E. ULE, n.º 8.584, Roraima, a 1.800 m. s. m., em campos, com as flores alvas, mas sepalos e petalos maculados de castanho purpureo e o labello com traços castanhos.

Observ.: Flores, quando bem abertas, de, 4,5 a 5 cm. de diametro, sobre racimo de 35-40 cm. de alt..

Menadenium labiosum COGN.
N.º 2.094 — J. HUBER, Cultivado no Horto Botanico do Museu, 24-6-1901.
9.328 — Idem, idem, em 4-1908.

Observ.: Especie bastante frequente no Estado do Pará. Cresce como o *Zygopetalum maxillare* LODD., mas em regra sobre «Assahy» do genero *Euterpe*. SCHLECHTER referiu o *M. Lindeniae* (ROLFE) COGN. que se distingue por ter 2-3 flores em pedunculo reclinado nuto.

Wulschlaegelia calcarata BENTH.

N.º 665 — Utinga, s/ind. em 24-4-1897.

5.661 — E. ULE, n.º 5.741, Rio Juruá-Mirim, Amazonas, em 7-1901.

Observ.: As raizes, fusiformes, com o revestimento estrellado pubescente da planta, parecem ser caracteres dignos de registro para a especie. O calcar é evidente nas flores.

Maxillaria chlorantha LINDL. ?.

N.º 13.634 — E. ULE, n.º 8.579, Roraima, nas mattas á 2.000 m. s. m.; flores dadas como castanho-arroxeadas, s/data.

Observ.: O material, embora bem conservado, combinando tambem com a especie em apreço, deixa-nos todavia, em duvida, devido á nota referente ás cores, que o collector registrou. Elle tinha sido dado como *M. Connellii* ROLFE, de que differe pelas flores até duas vezes maiores e pelo labello trilobado e pubescente na parte interna superior.

Max. galeata SCHEIDW. ?.

N.º 14.114 — E. ULE, n.º 9.262, Rio Acre, 6-1911.

Observ.: O material só tem um botão, que é menor do que devia ser para a especie em apreço. E' possivel que SCHLECHTER se tenha occupado com a mesma planta. Mas não conseguimos verificar a bibliographia sobre isso.

Max. Huebneri SCHLTR. (in «Beih zum Bot. Centralblatt», vol. XLII (1925) Abt. II, p. 131).

N.º 12.322 — A. DUCKE, Caquetá, Cerro do Cupaty, sobre rochas, das mattas baixas, em 27-11-1912.

Observ.: Este material, sem flores e nem inflorescencia, concorda no restante com a descripção feita por SCHLECHTER, para a especie referida; todavia deve-se deixar a duvida, porque o material que este ultimo viu veio das cercanias de Manáos. A affinidade que elle aponta para a *M. Desvauxiana* LINDL., no que diz respeito aos orgãos vegetativos, e tão grande que pode ser confundida.

Max. splendens POEPP. & ENDL.

N.º 40 — Horto Botanico do Museu Paraense, 3-9-1936.

Observ.: Cultivada no Horto referido, é possivel que o material tenha dado entrada alli proveniente do Perú, de onde a especie foi descripta e referida pelo Prof. COGNIAUX, na «Flora Brasiliensis». Pelo seu aspecto vegetativo recorda bastante da *Max. Rodriguesii* COGN. e da *Max. ochroleuca* LODD., mas os pedunculos aos pares e muito mais longos do que os grandes, e bem comprimidos pseudobulbos além do clinandrio ciliado em seus rebordos, a distinguem bem. Os sepalos e petalos do mesmo comprimento, isto é com 5-6 cm., acuminados; labello rijo-carnoso, constituem caracteristicos para estas citadas especies.

Camaridium amazonicum SCHLTR. (in «Beihefte zum Bot. Centralbl.» vol. XLII (1925) Abt. II, pag. 130.)

N.º 700 — J. HUBER, Aproaga, Rio Capim, Pará, em 3-1897.

10.107 — Dra. EMILIA SNETHLAGE, Rio Jamanchim, Ilha do Vieira, St. Helena, em 14-12-1908.

Observ.: O material concorda perfeitamente com a descripção. As folhas são um pouco mais curtas do que no *Cam. ochroleucum* (Sw.) LINDL. e revestem o rhizoma emquanto novo, dando-lhe o aspecto de *Vanda*. As flores, um pouco menores do que os desta especie, emergem das axillas dessas folhas distichas. Os pseudobulbos são eguaes aos da especie citada. No rotulo encontramos o nome: *Cam. cyrtopanthum* BARB. RDR., posto pelo filho desse autor. Infelizmente não temos a descripção, nem dados para verificar se estas duas especies são iguaes.

Cam. pendulum BARB. RDR.

N.º 13.630 — E. ULE, n.º 8.572, Roraima, a 2.000 m. s. m., em 12-1909.

Observ.: O material se compõe de um ramo com botões novos, SCHLECHTER, observou, na citação desta especie do Amazonas, que ella tem semelhança com a *Maxillaria rigida* BARB. RDR. que pensa dever ser tambem incluida no genero *Camaridium*. Elle lhe propoz assim o nome: *Cam. rigidum* (RDR.) SCHLTR. Vimos abundante material de *Cam. pendulum* BARB. RDR. numa partida de plantas pelo Sr. GEORGE HUEBNER fornecida a um colleccionador de Santos; mas aqui em S. Paulo ella não atura, devido ao clima.

Ornithidium squamatum BARB. RDR.

N.º 7.413 A. DUCKE, — Javary, Amazonas, em 7-1902.

Observ.: Material perfeitamente egual ao typo da especie. SCHLECHTER não referiu, entretanto, esta, das collecções feitas por KUHLMANN e HUEBNER, de que tratou na ob. cit. mais acima.

Trigonidium tenue LODD.,

N.º 8.835 — J. HUBER, Rio Peixe Boi, nas arvores á beira, em 3-11-1907.

Observ.: Este material foi, pelo Sr. BARBOSA RODRIGUES JUNIOR, rotulado com o nome: *T. mangiicolae* BARB. RODR. JUNIOR. Cremos que esse nome é nú, pois nada encontramos sobre elle no «Index Kewensis». SCHLECHTER referiu a especie na qual o classificamos, dos materiaes dos Srs. KUHLMANN e HUEBNER, ob. cit., do Igapó Caiçara e do Paraná do Limão.

Diadenium micranthum POEPP. & ENDL.

N.º 1.579 — Santa Catalina, Ucayali, bocca do Rio Catalina, leg. HUBER, em 12-1898.

Observ.: Tudo quanto temos deste material é uma inflorecencia, aliás determinada pelo Dr. SCHLECHTER. No aspecto as flores desta especie se parecem com as das *Comparettias,* mas differem muito pela estructura do labello, que é ligulado.

Ionopsis paniculata LINDL.

N.º 3.124 — BLANCHET n.º 3.964, Bahia, ex herb. de DELESSERT s/ind.
11.919 — A. DUCKE, Rio Cuminá Mirim, Pará, em 7-7-1912.

Observ.: O material, colligido pelo Dr. BLANCHET, não tem mais nenhuma flor, mas o seu numero vem referido na «Fl. Br.» vol. VI, VI, pag. 173. A especie é muito dispersada em todo o Brasil e mui facilmente confundida com affins.

I. pusilla BARB. RDR. (in «Contr. do Jard. Bot. do Rio de Janeiro» vol. IV (1907) pag. 102).

N.º 5.689 — E. ULE. Rio Juruá Mirim, fl. alvas, por dentro roxas, sobre Goiabeiras, 9-1901.

Observ.: Infelizmente não vimos a bibliographia indicada, mas é positivamente certa esta determinação, embora o material não mais tenha as flores.

Rodriguesia Batemani POEPP. & ENDL.

N.º 1.522 — J. HUBER, Pampa del Sacramento. Ilhas Catalina, Perú, 28-11-1898. (det. pelo Prof. SCHLECHTER).

Observ.: Distinguida da *R. venusta* REICHB. FIL., pelas flores, de petalos cuneiformes oblongos, no apice truncados ou bruscamente arredondados e apiculados; columna com os appendices erectos. A planta e o tamanho das flores, bem como a inflorescencia toda, são semelhantes. SCHLECHTER diz que ella se distingue pelas flores grandes, alvas e pintalgadas de roseo e estriadas de mais escuro.

R. secunda KUNTH.

N.º 10.062 — Dra. E. SNETHLAGE, Tapajóz, Palmital, 12-11-1908.
12.410 — A. DUCKE, Tarumã Mirim, na Campina cerrada da terra firme, flores roseas, 22-11-1912.

Observ.: As flores desta especie, mui dispersada, são ora mais ora menos vermelhas e o porte da planta varia egualmente. Não pudemos saber portanto, se de facto a nova *R. minor* SCHLTR. tem ou não razão para existir ao lado desta.

Trizeuxis falcata LINDL.

S/n. — Procedencia, collector e data ignorada. S/ind.

Observ.: Trata-se de uma especie bastante dispersada no Brasil. O material presente é deficientissimo. A inflorescencia vem presa ao rhizoma, e as folhas já se perderam.

Quekettia microscopica LINDL.

N.º 515 — Marco da Legua, Belém do Pará, em 11-1895.

Observ.: Esta é actualmente a unica representante deste genero. As outras, com inflorescencias curtas e flores differentes e maiores, passaram todas para o genero *Capanemia,* creado, aliás, para ellas pelo patricio Dr. BARBOSA RODRIGUES, que soube interpretar as differenças morphologicas melhor do que o Dr. COGNIAUX, que transformou o genero.

SCHLECHTER tambem mencionou esta especie das cercanias de Manáos, dos materiaes de KUHLMANN e HUEBNER.

Leucohyle mutica (REICHB. FIL.) SCHLTR.

Syn.: *Trichopilia mutica* REICHB. FIL. conf. «Fl. Br.» vol. III, VI, pag. 202, tab. 43, fig. I.

Brassavola paraensis HUB. talvez inedita, porque não consta do «Index Kewensis», nem é referida pelo Prof. SCHLECHTER.

N.º 2.073 — Horto Botanico do Museu Paraense, procedente da Ilha das Onças, Pará, flores, em 8-8-1900.

Observ.: Ao tratarmos desta especie na Parte I, «Bot. Comm. Lin. Tel. Estr. de Matto Grosso ao Amazonas», pag. 60 e tab. 47, já tinhamos chamado attenção para o facto de ficarem melhor collocadas no genero *Helcia,* que tem o labello aconchavado e não enrolado como *Trichopilia.* Mas SCHLECHTER, grande reformador e criador de generos e especies, houve por bem separal-a tambem de *Helcia* por ser este genero caracterisado por inflorescencias monanthas, emquanto aqui, a saber em *Leucohyle,* ellas podem ter de 3-5 flores. Tambem pelo labello inteiro isso se justifica, porque em *Helcia* elle é dado como trilobado.

A identificação com *Brassavola* foi feita graças á semelhança das folhas, que são quasi roliças, sulcadas profundamente na parte de cima, quando bem nutridas. Aos interessados indicamos a estampa que demos no trabalho indicado.

Brassia lanceana Lindl.

N.º 2.095 — J. Huber, Horto Botanico do Museu Paraense, 24-6-1901.
9.324 — Idem, idem, em 4-1908.
S/num. — S/ind. Maio de 1915. Provavelmente ainda do mesmo local.

Observ.: O material é bem deficiente. Schlechter mencionou a especie dos materiaes de Kuhlmann e Huebner, do Amazonas, Igapó do Caiçara.

Estamos intrigados com o facto de só termos encontrado esta unica especie deste genero no presente herbario, quando temos recebido do Amazonas e Pará mais de seis especies para o nosso orchidario particular e para o do Estado de S. Paulo, egualmente algumas. Infelizmente, aqui em S. Paulo, ellas se não adaptam ao clima, por demais frio.

Oncidium altissimum Sw.

N.º 10.138 — Pessoal do Museu Paraense, Rio Guamá, na matta, 28-12-1908.

Observ.: Apenas uma inflorescencia sem folhas e sem pseudobulbos, mas as flores combinam perfeitamente com as da especie em apreço. Esta é affim do *O. Baueri* Reichb. fil. aqui do sul do Brasil.

O. flexuosum Sims.

N.º 2.918 — Blanchet, n.º 3.343, Bahia, (pelo Sr. Barb. Rodr. Junior dada como *Onc. bahiense* Barb. Rdr. Junior!).
3.311 — Blanchet, n.º 6.000, Bahia, s/data.

Observ.: Esta especie, communissima aqui no Brasil meridional e até a Bahia e Pernambuco, é inconfundivel pelo seu porte e estructura das flores.

O. glossomystax Reichb. fil.

N.º 5.688 — E. Ule, n.º 5.778, Juruá Mirim, sobre goyabeiras, 9-1901.

Observ.: Planta em tudo menor do que *Onc. pussilum* Reichb. fil. e differente pelo labello, de lobos lateraes estreitos e ob-ovalados ou oblongados, crista longo-ciliada. Flores menores.

O. Keppleri Reichb. fil.

N.º 5.697 — E. Ule, n.º 5.790, Rio Juruá Mirim, 9.1901. (Apenas inflor.).

Observ.: Bastante parecida com o *O. Baueri* Reichb. fil. e *O. altissimum* Sw. com folhas mais longas e quasi lineares, de 50-60 cm. de comp. sobre 4-6 cm. de largo. Labello do comprimento dos sepalos lateraes e as alas da columna em sua base projectadas; alas basaes do labello egualmente voltados para trás.

O. lanceanum Lindl.

N.º 15.219 — A. Ducke, Obidos, Amazonas, em 22-12-1913. (Obidos do Rio Branco).

Observ.: Esta planta é uma das mais bellas do genero.

O. micropogon Reichb. fil. var. *bahiense.*

N.º 152 e 159 — S/ind. apenas com a nota collecção Botanica etc. fl. 27.

Observ.: Esta especie foi provavelmente collectada na Bahia; do typo se distingue pelo labello com lobo mediano menor e flores bem menores. O typo e a outra variedade são frequentes no litoral austral do Brasil.

O. pussilum Reichb. fil.

N.º 183 — S/ind. Amapá, em 11-1895.
1.462 — J. Huber, Quebrada Grande, Chauchalmaya, Rio Ucayali, Perú, 23-11-1898.
2.697 — Tresling, n.º 450, proc. illigivel, em 19-9-1908.
2.742 — Blanchet, n.º 2.339, Bahia, s/data.

3.312 — BLANCHET, n.º 6.001, Bahia, s/data.
3.336 — SIQUEIRA RODRIGUES, Igarapé-assú, Belém, 6-2-1903.

Observ.: Esta planta é frequente no interior do Brasil, Bahia e norte. Em Matto Grosso a encontramos vegetando sobre galhos finos e até folhas velhas de laranjeiras abandonadas e em Myrtaceas diversas, que desprendem a casca dos ramos. SCHLECHTER tambem a referio das cercanias de Manáos, do material do Sr. GEORGE HUEBNER.

O. Sprucei LINDL.

N.º 324 — J. HUBER, sobre «Umarizeiro», Ceará, em Quixadá, 10-1897.

Observ.: Muito facilmente confundivel com o *O. cebolleta* Sw., mas pelo labello duas vezes mais longo do que os sepalos lateraes, que por sua vez já são mais longos do que o dorsal, bem caracterisada.

Lockhartia elegans HOOK.

N.º 1.647 — J. HUBER, Igapó da Matta, Pará, 8-1899.
12.839 — E. ULE, n.º 7.733, Rio Branco, Amazonas, em 11-1908.

Observ.: O material está sem flores, mas pelo porte da planta não deixa duvida. O Sr. BARB. RODR. JUNIOR o havia determinado como de *L. lunifera* REICHB. FIL. que é especie natural do sul: Rio de Janeiro, S. Paulo e Paraná. O segundo exemplar deu como *L. Weigelthi* REICHB. FIL. que é menor no porte e nas flores.

Ornithocephallus falcatus FOCKE.

N.º 2.173 — J. HUBER, Horto do Museu Paraense, sobre Pitangueiras 8-1901.

Observ.: Um tanto menor do que o *Orn. cujeticola* BARB. RDR. e com o labello e petalos bastante differentes, além de ser o pedunculo floral glabro, apenas alado.

O. cujeticola BARB. RDR.

N.º 2.093 — J. HUBER, Pará, em 12-6-1901.
4.504 — Idem, Ponto Alegre, alto do Rio Purús, 16-4-1909.
5.652 — E. ULE, n.º 5.726, Rio Juruá Mirim, 7-8-1901.

Observ.: As differenças existentes entre as duas especies referidas já foram salientadas na especie precedente. Os dois primeiros numeros pelo Sr. BARB. RODR. JUNIOR determinados como sendo *Orn. avicola* REICHB. FIL. que se distingue pelos sepalos e petalos denticulados em suas margens, emquanto esta os tem completamente inteiros e o dorso dos sepalos cerdoso-glanduloso e os petalos mais ou menos quadrangulares.

Notylia inversa BARB. RDR.

N.º 1.589 — A. DUCKE, Ceará, Guaramiranga, 24-8-1908.

Observ.: Em tudo um pouco menor do que a seguinte.

N. sagittifera LINK. & KL.?

N.º 278 e 1.126 — S/ind.
15.148 — A. DUCKE Rio Branco, Amazonas, 14-12-1913.

Observ.: Este exemplar se encontra muito deteriorado e quasi sem flores, de modo que se recommenda deixar a determinação em duvida.

Dichaea Cogniauxiana SCHLTR.

Syn.: *D. graminoides* LINDL. conforme interpretado por A. COGNIAUX, na «Fl. Br.» veja-se «An. das Mem. Inst. Butantan, Botanica», fasc. IV

(1922) pag. 66 e Idem fasc. II (1920) pag. 47. Não da verdadeira especie descripta por LINDLEY.

N.o 1.765 — P. DUSÉN, Rio de Janeiro, em 15-2-1903. sob o n.o 1.898.

Observ.: Já pelas folhas facilmente distinguivel da *Dichaea graminoides.*

D. cornuta SP. MOORE.

N.o 1.770 — J. HUBER, Alto Quatipurú, 12-1899.

Observ.: Foi primeiramente descripta da flora de Matto Grosso e parece ter sido confundida na flora amazonica.

Compylocentrum amazonicum COGN.

N.o 70 — Horto Botanico do Museu Paraense, em 10-1895.

Observ.: Muito proximo do *C. fasciola* COGN. menos robusto e flores menores.

C. fasciola COGN.

N.o 1.523 — J. HUBER. St. Catalina, Pampa del Sacramiento, Perú em 28-11-1898.

Observ.: SCHLECHTER determinou este material como *Angrecum tenue* ROLFE.

C. micranthum ROLFE

N.o 9.407 — BAKER, n.o 423, Belém do Pará, em 15-2-1908.

Observ.: Apezar do nome ser «micranthum», uma das especies de flores mais apparentes do genero na flora brasilica. No genero *Angrecum,* onde primeiramente foi descripta a especie, esse nome se poderia justificar, mas não em *Campylocentrum.* SCHLECHTER mencionou a especie do material colligido por HUEBNER.

C. Poeppigii (REICHB. FIL.)

Syn.: Angrecum Poeppigii REICHB. FIL.

N.o 1.524 — J. HUBER, St. Catalina, Perú, s/data.

Observ.: O material não tem mais flores, apenas caules e raizes. As folhas não existem, aliás, nesta especie.

C. tenue ROLFE

N.o 1.523 — (repetido, pois cabe tambem ao *C. fasciola* COGN.) J. HUBER, Belém do Pará, em 24-5-1901.

Observ.: E' pequeno, sem caule e sem folhas; de um nodulo sessil á casca do ramo partem as longas e tenues raizes e se prendem a elle ou ficam tambem destacadas, supportando o referido nodulo no espaço. Do nodulo nascem as inflorescencias com pequenas flores em séries.

ABSTRACT

The present publication is an annotated list of the species of orchids in the general herbarium of the Museu Goeldi of Pará, Brazil.



Á MARGEM DO TRATADO DE ORNITHOPATHOLOGIA

POR

J. Reis e P. Nobrega

Trabalho do Instituto Biologico de S. Paulo

O «Tratado de Ornithopathologia» por nós escripto, e editado pelo Instituto Biologico, procurou considerar a bibliographia principal dos varios assumptos nelle contidos, até 1935. Eventuaes são as referencias a publicações posteriores a essa época. Durante o tempo, cerca de um anno, que medeou entre a coordenação dos originaes e o apparecimento da obra, varias publicações nos chegaram ás mãos que, por motivos independentes de nossa vontade, não puderam ser referidas no tratado. E' nosso proposito no presente artigo tratar das principaes destas publicações, de modo a completar o livro. Aproveitamos a opportunidade para corrigir certos erros e sanar algumas lacunas. E' obvio que não vamos cuidar dos pequenos enganos typographicos, que os leitores terão corrigido por si.

Na lista de «livros a que se fez referencia no texto» houve uma lamentavel mistura de duas referencias, a da obra de WARD e GALLAGHER *(Diseases of domesticated birds*-MACMILLAN Co) e a de WENYON *(Protozoology)*.

LARYNGO-TRACHEITE

A respeito da filtrabilidade do virus desta molestia cumpre notar que as primeiras verificações são de BEAUDETTE e HUDSON. Existencia de portadores é revelada por KOMAROV e BEAUDETTE e por GIBBS. Para revelal-os, colher muco tracheal com chumaço de algodão é inoculal-o em animaes sensiveis.

Do capitulo sobre *laryngo-tracheite* devem ser retiradas as referencias ás observações de SCHALK e HAWN e de BUSHNEL e BRANDLY: verificou-se recentemente que a molestia estudada por esses pesquisadores é produzida por virus diverso do da *laryngo-tracheite* — o virus da *bronchite infectuosa,* sobre o qual daremos noticia adiante. No diagnostico differencial é preciso, portanto, considerar esta nova entidade representada pela *bronchite infectuosa;* a distincção se faz pela inoculação do virus, colhido em animaes doentes, em aves immunes á bronchite e á laryngo-tracheite.

BRONCHITE INFECTUOSA

A expressão *bronchite infectuosa* tem sido desde muito usada como synonymo de *laryngo-tracheite;* nos ultimos annos, porém, o nome *laryngo-tracheite* tem ganho maior voga. Por outro lado, *bronchite*

apparece agora com novo sentido, para designar molestia nova, distincta da *laryngo-tracheite*. A historia da *bronchite infectuosa* (não *laryngo-tracheite!*) é a seguinte. Em 1931 SCHALK e HAWN descrevem em pintos de 2 dias a 3 semanas, molestia que suppõem nova, caracterizada por perturbações respiratorias e depressão, com mortalidade de 40-90 %, manifestando-se em surtos agudos e facil de transmittir-se de pinto a pinto. A autopsia revela congestão pulmonar e exsudato sôro-mucoso nos bronchios e bronchiolos. A molestia espalha-se a partir dessa época nos Estados Unidos e em 1933 é novamente referida por BUSHNEL e BRANDLY, que todavia a identificam á *laryngo-tracheite*. Finalmente BEACH e SCHALM mostram ser a *bronchite* produzida por virus novo, incapaz de immunizar contra a *laryngo-tracheite*, mas sim contra a *bronchite*. E' infectante pelas vias muscular, subcutanea, peritonial, cloacal e tracheal. O trabalho completo desses autores só appareceu em 1936, mas ligeiras notas foram apresentadas ao 12.º Congresso de Medicina Veterinaria, e ao 5.º Pac. Sci. Cong. em 1933. E' possivel que seja identificavel ao da bronchite um virus descripto por GIBBS em surto de «common colds».

BRONCHITE ESTREPTOCOCCICA

GIBBS descreveu uma bronchite de pinto comparavel clinicamente á laryngo-tracheite, porém produzida por um estreptococco que denominou *S. bronchitis*, separavel de *S. epidemicus* e *S. pyogenes* por meio de provas de absorpção de agglutininas. E' curioso notar que, mais tarde, descrevendo um virus causador de «common colds», expressão que considera synonyma de «corysa», GIBBS se refere ao caso de que isolou o *S. bronchitis* como sendo de «common colds» (ou corysa no sentido de NELSON, DELAPLANE etc.).

CORYSA

Cumpre accrescentar que recentemente NELSON descreveu novo typo de *corysa* (de «slow onset») independente do *Hemophilus gallinarum* e provavelmente produzida por germen extraordinariamente pequeno, visivel no muco nasal no inicio da molestia, não cultivavel nos meios communs mas sim em cultura de tecido.

LEUCOSES

FURTH observa que as gallinhas desenvolvem anticorpos contra o virus livre de cellulas. O sôro de gallinhas immunes confere protecção, embora pequena, contra o virus filtrado, mas não contra as cellulas leucemicas. Gallinhas immunes desenvolvem leucose quando injectadas com virus misturado a cellulas leucoticas; e o plasma dessas gallinhas, assim como suas cellulas, são capazes de induzir leucose;

parece que o virus é resistente aos anticorpos quando associado a cellulas. FURTH e STUBBS obtêm cultura pura de sacroma de gallinha (amostra 13) que elabora o virus activo capaz de produzir sacroma e erythroleucose. Esta amostra é minuciosamente descripta em trabalho de STUBBS e FURTH.

Em 1935 FURTH publica trabalho muito importante sobre relações entre leucose e neurolymphomatose. Pensa que a neurolymphomatose seja manifestação proxima da leucose e do sarcoma, mas não produzida por virus commum.

DOENÇA DE ADLER E MAC FIE

KOMAROV identifica á peste aviaria descripta por ADLER e MAC-FIE, a qual foi tambem longamente estudada por GILBERT e SIMMINS.

PFEIFFERELLOSE (?) DOS PATINHOS

HENDRICKSON e GILBERT descrevem mortandade em patinhos, provocada por bacteria até então não referida e por elles batisada de *Pfeiferella anatipestifer*. A molestia costuma evoluir de modo violento, com alta mortalidade; lesões de typo septicemico. O germen é aerobio estricto, produz induto continuo mucoide sem pigmento nos meios solidos. Nos esfregaços se observa materia amorpha entre os germens; não fermenta os assucares, liquefaz a gelatina e coagula ovo, sôro e caseina.

LISTERELLA

As *Listerellas,* que devem aproximar-se das *Corynebacteria,* têm sido assignaladas em infecções de animaes mais diversos. Recentemente SEASTONE descreveu infecção esporadica em gallinhas; um dos principaes caracteres anatomopathologicos da infecção são as extensas necroses do myocardio, formando nodulos de aspecto parecido com o dos encontrados na *pullorose.* As amostras isoladas por SEASTONE não differem das obtidas em outros animaes. A *Listerella* é germen gram-positivo, não esporulado, movel, hemolytico; fermenta glycose, rhamnose e salicina; lentamente, dextrina, amido e saccharose; inconstantemente, lactose, maltose, e glycerina; não fermenta mannita, inulina, galactose, xylose, arabinose e dulcita. Após inoculação, as aves revelam intensa monocytose que ao fim de algum tempo declina.

INFLUENZA DOS GANSOS

Por um lapso, foi omittido o nome do germen da molestia, cuja posição systematica foi entretanto discutida. Para os que o consideram Hemophilus, será *H. septicemiae;* BERGEY e COLS. a principio apresentam-no como *Eberthella septicemiae* e depois como *Shigella.*

O nome que Riemer propoz em 1904 — *Bacillus septicemiae anserum exsudativae* — é invalido de accordo com as leis de nomenclatura. Note-se que ha discordancia entre a descripção do germen dada por Bergey e a de Reinhardt, que reestudou o assumpto.

SHIGELLAS

Na definição do genero *Shigella* escapou á revisão um erro que o leitor certamente já percebeu. Que as Shigellas são ás vezes fermentadoras da lactose é o que se quiz dizer, e não, como lá se encontra, que ellas não fermentam tal assucar. Poder-se-á accrescentar ao texto os caracteres de *Shigella pfaffi,* segundo o autor da especie, Hadley: bastonetes de 0,4 por 1,4 micra, isolados, immoveis, gram-negativos, formando colonias pequenas, acinzentadas, translucidas, inteiras e homogeneas no agar; turvando o caldo, com sedimentos e pellicula fina; não alterando o leite tornasolado; fermentando sem gaz glycose, maltose, arabinose, dextrina, xylose, mannita salcina; não produzindo indol nem reduzindo nitratos a nitritos.

O *Bacterium rettgeri* de Hadley, collocado por Bergey entre as *Shigellas,* distingue-se do precedente por alcalinizar o leite tornasolado em 8 dias, tornando-o translucido; fermenta glycose, levulose, galactose, mannose, xylose, adonita, mannita, salicina. Não forma indol, não reduz nitratos a nitritos.

OMPHALITE

Não está referida no livro, mas é infecção commum, não especifica, do «umbigo» dos pintos. Manifesta-se nos primeiros tres dias, attinge o maximo no sexto e desapparece no decimo. A mortalidade média segundo Jungherr é de 10 %. Descrevem-se duas formas, uma secca associada a germens diversos, outra humida ligada a anaerobios *(Clostridium sspp.);* neste ultimo caso a pelle do abdomen se apresenta escura, hemorrhagica, empastada. Brandly relaciona a condição com alta humidade, a qual impediria o fechamento normal do sacco da gemma dentro da cavidade do corpo. A *omphaite* foi ainda estudada por Volkmar.

COLIBACILLOSE

Cernaianu e Cols. referem a doença em patinhos, com symptomatologia identica á da *pullorose* em pintos; os adultos apresentam o germen no ovario.

ESTAPHYLOCOCCOSE

Hole e Purchase descrevem arthrite e periostite em faisão.

PULLOROSE, TYPHO E OUTRAS SALMONELLOSES

Roekel estuda a variação de *S. pullorum* quanto á sensibilidade ao chloreto de sodio, comportamento sorologico etc. Johnson observa

pullorose em perú (germen isolado do sangue de peruzinhos e do testiculo de adultos). CERNAIANU descreve localização de *S. gallinarum* na vesicula biliar, onde se multiplica e de onde é eliminada com a bile. *Salmonella suipestifer typo kunzendorff* é referida por CERNAIANU em pintos. A amostra que JUNGHERR e WILCOX descrevem em pombo como *typhimurium* atypico, é classificada por EDWARDS como nova variedade *(storrs),* mas depois é collocada como var. *binns.* Paratyphos de patos relacionados com infecções humanas têm sido estudados de modo intenso na Allemanha; SCHONBERG isola *typhimurium* dos ovos e das fezes de patos apparentemente sãos. WESSELMANN observa que a *Salmonella* que contamina a casca do ovo, pelas fezes, pode atravessal-a e attingir a parte comestivel do ovo. JANSEN isola de patos variedade que classifica como *enteritidis var. muhleim.* Analyse dos trabalhos de ROBERTS e CARD sobre herança de resistencia á *pullorose* é feita por HILL, que não acha seguro concluir das experiencias analysadas os effeitos da selecção. Ao contrario, permittiriam conclusões seguras quanto á herança de resistencia (dentro de uma raça) os trabalhos de LAMBERT e KNOX, e LAMBERT com a *S. gallinarum.*

CHOLERA

GERLACH estuda com certas minucias a estandardização do sôro contra a cholera. SKRJABINE e SCHULZ apresentam curiosa idéa de que a infecção pela cholera só se dá em aves infestadas por helminthos (acção inoculadora dos vermes). MANNINGER insiste em suas idéas sobre o saprophytismo normal do germen da cholera, que não seria propriamente contagiosa, devendo-se attribuir os surtos a accidentaes quebras de resistencia. Este ponto de vista é criticado por STYLIANOPOULOS e DEBONERA, por FEKETE e outros.

TUBERCULOSE

Escapou referencia aos trabalhos de BURCKHARDT e de ROEMER sobre quadro hematico no curso da infecção. As observações concordam com as referidas no livro.

DOENÇAS EXPERIMENTALMENTE TRANSMISSIVEIS A AVES

SLARAPANI refere infecção experimental de aves pelo *bradsot* (gallinha e pombo).

ESPIROCHETOSES

CERNAIANU recommenda o uso do *Spirocid* por via buccal (uma capsula de 0,25 grs. por kilo); SPARAPANI o *trepol* por via intramuscular.

PROTOZOOSES

Na pagina 236 (legenda) encontra-se erradamente attribuido a DRBOHLAV a autoria da figura de *Histomonas,* que de facto pertence

a TYZZER. SPARAPANI refere transmissão da *Egyptianella pullorum* a pombo; o mesmo autor attribue a *Trichomonas* graves enterites em pintos. WEINZIRL tambem attribuiu a uma especie particular de *Trichomonas* — *T. pullorum* — doença fatal observada em pintos recem-nascidos.

HELMINTHOSES

NEWSON e STOUT descrevem molestia grave provocada pela infestação por *Psilostomum ondatrae* no proventriculo de gallinhas. MACY estuda com minucia a biologia de *Prosthogonimus*. A SKRJABINE e SCHULZ deve-se um longo trabalho sobre a luta contra as helminthoses das aves domesticas, impossivel de resumir-se aqui; representa boa mina de informação sobre a acção morbigena de helminthos e os meios de erradical-os; merece especial menção a lista de helminthos causadores de affecções em aves e a de helminthicidas uteis. FREITAS e ALMEIDA publicam monographia extensa sobre *capillarias* e *capillarioses*.

HIRUDINEOS

Escapou no livro referencia a este grupo que, aliás, encerra poucos representantes accusados de accidentes em aves. *Glossiphonia tessalata* tem sido algumas vezes assignalada nas vias aereas superiores de aves aquaticas, acarretando perturbações varias, inclusive do systema nervoso. As referencias bibliographicas colligidas por BAUDET (in Heelbergen) são as de BUECHLI na Hollanda e a de WELTNER em Strassburg, esta ultima relatada por RAILLIET em seu tratado de zoologia.

ECTOPARASITOSES

REBRASSIER e MARTIN observam surtos graves de infestação por *Syringophilus* em gallinhas; os parasitas provocam queda parcial das pennas (muda atypica) que só affecta metade do corpo. BARGER e CARD referem que o *Hematosiphon inodora* (percevejo) pode atacar gallinhas e tornar-se praga nociva. Mortandade em gansinhos (WALKER) e perús novos (GIBSON) tem sido provocada por *Simulideos*. Larvas de Coleopteros podem atacar aves, especialmente pombos; são referidas por BUCKLEY e COLS.: *Dermestes lardarius, Tenebrio molitor* e *Necrophorus sp.* As duas primeiras, muito vorazes, atacam borrachos, comendo-lhes a carne do pescoço e da barriga.

Contra *Liponyssus silviarum* WHITEHEAD e MAW recommendam unguento formado de naphtalina (raspas pulverizadas) e vaselina, na razão de 1:2. PAYNE recommenda o sulfato de nicotina applicado no poleiro; este tratamento tem de repetir-se mais duas vezes, pois uma unica applicação é inefficaz, segundo BISHOPP e WAGNER.

GLANDULAS ENDOCRINAS

HUTT e BOYD descrevem hyperparathyreoidismo espontaneo em gallinha, curavel pelo parathormonio; as manifestações que observou correspondiam ás de tetania com hypocalcemia.

HERANÇA DE CONDIÇÕES PATHOLOGICAS

HUTT publica trabalho de conjuncto sobre caracteres lethaes hereditarios, cuja leitura é util para completar as informações contidas no capitulo sobre pathologia do embryão em desenvolvimento. Merece especial menção a chamada *convulsão congenita («congenital loco»)* de pintos: estes não ficam em pé quando nascem, mas cáem de costas, apresentando a cabeça repuxada para trás, bico para cima e geralmente desviado lateralmente; convulsões periodicas. A base da anomalia é obscura; KNOWLTON provou ser caracter recessivo simples; gallinhas heterozygotas em relação ao caracter são normaes em tudo, mas em sua descendencia o referido autor encontra 146 «locos» num total de 607.

MYCOSES

Achorion passerinum é descripto por FISCHER em grande escutula de canario e em lesão herpetica humana; especie proxima de *A. gallinae,* mas não possue pigmento.

Quanto ao sapinho, cumpre notar que *Mycotorula albicans* é por DODGE collocada no genero *Syringospora;* segundo o mesmo autor, *Geotrichoides krusei* ficaria no genero *Candida.*

ENVENENAMENTOS

No envenenamento pelo chumbo VEENENDAAL descreve inclusões basophilas nos erythrocytos, ás quaes attribue valor diagnostico. O mesmo assumpto é estudado por JOHNS.

AFFECÇÕES DO SYSTEMA NERVOSO

HUTT e CHILD descrevem em pintos um *tremor congenito* particularmente notorio quando o animal está de pé, desapparecendo quando o mesmo está sentado. As manifestações, muito pronunciadas no momento da eclosão, desapparecem gradualmente nas primeiras quatro semanas, se a ave sobrevive. Mortalidade de 85 % mais ou menos. Provavelmente hereditaria, ligada a caracter simples recessivo.

CRAZY CHICKS

A condição conhecida por tal nome foi estudada por DUNLAP que a verificou decorrente de nephrite. Os symptomas manifestam-se em geral do 20.º ao 23.º dias e consistem em incoordenação muscular

TABELLA

Composição chimica do sangue de aves, segundo varios autores.

Autores	Animaes	mg. °/o sangue							gr. °/o	vol. °/o	
		Acido urico	Az não prot.	Glycose	Az uréa	Creatina e Creatinina	P inorg.	Ca	Hb.	Co^2	O^2
Horwath	adultos, gals.	6.53	19.21	304.70	—	—	—	—	—	—	—
Hayden e Fish.	adultos, gals.	2.47	28.82	139.10	—	—	—	—	—	—	—
Hogan e cls.	pintos	4.80	44.90	184·00	—	—	—	—	—	—	—
Dunlap	»	4.41	46.40	286.80	—	—	—	—	—	—	—
Scott e cols.	perú macho	6.23	41.59	189.4	3.17	4.16	3.66	11.66	15.04	53.85	—
»	Legh. macho	4.69	42.39	160.2	2.81	4.16	3.83	11.50	13.47	50.09	—
»	» femea	4.83	38.82	181.8	2.94	3.89	3.77	10.98	9.72	49.06	—
Dukes e cols.	frango Legh.	—	—	—	—	—	—	—	8.9±0.7	—	—
Gonzaga	pinto 1 dia	5.23	29.97	202.14	1.70	—	—	—	9.12	—	12.26
»	» 2 sem.	2.82	24.12	215.50	1.50	—	—	—	9.28	—	12.43
»	» 4 sem.	2.85	22.39	186.07	1.16	—	—	—	9.74	—	13.05
»	» 6 sem.	2.29	19.73	219.27	1.49	—	—	—	9.34	—	12.51
»	» 2 mezes	5.17	20.10	211.60	1.64	—	—	—	10.80	—	14.47
»	» 3 »	4.44	15.95	182.11	2.26	—	—	—	11.59	—	15.53
»	» 4 »	4.31	18.14	187.80	2.13	—	—	—	11.89	—	15.94
»	» 6 »	3.12	20.04	185.84	2.30	—	—	—	11.14	—	14.93
»	» 8 »	2.67	16.34	177.86	2.16	—	—	—	12.43	—	16.65

e tremor da cabeça, sobrevindo a morte em poucos dias, geralmente dois. Mortalidade de 5 %. No rim observa-se inchação, congestão e degeneração albuminosa; os tubulos são obliterados por cellulas de cytoplasma granuloso e nucleo encarquilhado ou desaparecido. No sangue, augmento de acido urico; o azoto total não proteico apresenta cifras que, comparadas com o normal de HORWARTH e HAYDEN, parecem augmentadas, mas não quando comparadas com os normaes de HOGAN e GONZAGA. Baixa taxa de assucar. E' provavel que a condição resulte do alto teor de proteina na ração forçada.

HEMATOLOGIA

A tabella resume uma série de dados que não foram incluidos no livro, relativos á chimica do sangue de aves. As tres primeiras referencias foram retiradas do trabalho de DUNLAP, onde estão citadas.

RACHITISMO

MAC GOWAN e EMSLIE publicam trabalho sobre a natureza e pathogenose do rachitismo, de grande interesse pratico e theorico. Salientam que na literatura referente ao rachitismo em aves tem havido confusão entre o verdadeiro *rachitismo* e a *osteoporose;* clinicamente a confusão é absoluta. A differenciação não pode ser feita pelo teor dos casos em cinzas ou em calcio e phosphoro, mas recommendam o methodo histologico (met. de KOSSA). Criticam a noção, baseada em literatura mais ou menos extensa, da importancia da relação Ca: P na nutrição do pinto, e insistem em que o fundamental é o teor percentual de calcio em relação ao seu poder de neutralizar o acido chlorhydrico do estomago. Submettendo pintos a uma determinada ração basal, observam que podem produzir *osteoporose* com deficiencia de carbonato de calcio (mesmo quando em presença de excesso de phosphoro), e rachitismo com excesso de carbonato mesmo quando em presença de pouco phosphoro; ambas as condições são cortadas pela vitamina D. Numa ração commum ha de ordinario phosphoro bastante de modo que o aconselhavel é completal-a com carbonato de calcio.

PEROSE

Convem insistir, em relação á etiologia desta condição, que os dados relativos ao papel do phosphoro se referem a phosphoro inorganico, geralmente ministrado como supplemento da ração, sob forma de phosphato de calcio (farinha de ossos). MC GOWAN já apresentou evidencia de que o metabolismo do calcio e do phosphoro é muito menos eficiente quando essas substancias são ministradas em combinação chimica uma com outra (phosphato de calcio, por exemplo) do que

quando misturadas separadamente, o Ca dado sob forma de um sal de outro radical acido que não P^2O^5, e o P sob forma organica, que requeira previa digestão antes da absorpção (forma de «delayed action»); isso permitte que o calcio seja absorvido antes de combinar-se com o phosphoro. A acção do farello de arroz na prevenção da perose talvez assim se explique (pela riqueza em P organico) e não pela existencia de qualquer factor especifico anti-perosico.

AVITAMINOSE G

Encontra-se no livro referencia á acção do complexo vitaminico G sobre germinabilidade (pg. 432) e a um syndrome pellagroide (pg. 398); na época do preparo do capitulo, ainda não estava bem demonstrado depender este ultimo, de avitaminose G. (De passagem seja dito que as tres ultimas palavras da linha terceira do capitulo Synd. pellagroide — «addicionado a levedo» devem ser riscadas). No livro tambem se encontra referencia a um «typo especial de leg weakness» (pp. 402) descripto por BETHKE e COLS., que está hoje identificado á avitaminose G.

Actualmente está, entretanto, demonstrado ser a vitamina G necessaria ás aves, decorrendo de sua ausencia as seguintes perturbações: paralysias, syndrome pellagroide, baixa da germinabilidade e parada de crescimento, augmento da mortalidade.

Procuraremos resumir a historia das verificações de avitaminose G em aves e relatar os factos recentes mais importantes.

Em 1926 HAUGE e CARRICK revelam que o pinto requer factor hydrosoluvel para o crescimento, além dos factores antineuriticos. Nessa época a vitamina B ainda não havia sido reconhecida como um complexo, que depois se desdobrou em B 1 e G.

Crescimento. O mesmo factor que condiciona a germinabilidade parece estar ligado ao crescimento; o leite é rico neste factor (40).

HEUSER (8) refere a acção do complexo G sobre o aproveitamento da proteina quando ministrada acima de certo nivel; com effeito, até um certo nivel de proteina, observa-se que o crescimento é proporcional á quantidade de proteina até 20 %; dahi para cima, não ha mais ganho, a não ser que se complete a ração com vitamina G.

HEUSER estuda as necessidades do perú em relação á vitamina G e observa que a ração deve conter nas quatro primeiras semanas um minimo de vitamina G equivalente a 16 % de leite desnatado secco; a 10 % nas quatro semanas seguintes, e 7 % após 8 semanas. A acção dos processos de manufactura sobre o teor de alimentos de aves em vitamina G é estudada por DAVIS e NORRIS.

Heiman verifica que as phases do complexo G importantes no leite são a promotora de crescimento e germinabilidade, e a antiparalytica. Heiman e Norris observam que, addicionando á ração deficiente de vitamina G, 5 % de sôro de leite secco ou 5 % de leite desnatado, a germinabilidade augmenta do mesmo modo nos dois casos; usando-se, porém, 2,5 % de cada uma destas substancias, o sôro secco se revela mais activo que o leite. A relação entre o teor de vitamina G no leite desnatado secco e o teor do sôro secco é de 1:1.5 % (40).

Os trabalhos de Norris e Colls. (63, 64) de Ringrose e Colls. (68), de Bethke e Colls. (7,8), de Heuser (44) e outros vêm mais tarde confirmar os de Hauge e Carrick quanto á necessidade de um factor diverso da vitamina B 1, factor esse thermo-resistente, cuja identidade ao complexo G foi suspeitada (7, 8, 44, 63, 64) e recentemente provada (62).

Postura. Muito pequena é a necessidade da ave em vitamina G, para a postura (40).

Syndrome pellagroide. Acha-se bem descripto no livro. Notar que este syndrome se obtém mais facilmente com a dieta de clara de ovo secca do que com a caseina purificada. Heuser prefere alterações renaes ligadas ao processo. Referencias bibliographicas, além das contidas no livro, em Heuser (44, 62).

Paralysia. A paralysia nutritiva produzida artificialmente por Norris e Colls. (64), foi observada espontanea, no campo, por Bethke e Colls. e acha-se referida no livro (na pag. 402) como typo especial de «leg weakness»; observa-se do 10.º ao 21.º dia, e attinge pernas e pés, uni ou bilateralmente; os dedos dos pés encurvam-se para dentro; a doença é prevenivel pelo leite, levedo, alfafa, figado. Está hoje provado que a paralysia resulta de deficiencia de um factor pertencente ao complexo G (62); é facil produzil-a com dieta de caseina purificada, não se conseguindo isso com a dieta de ovo que condiciona o syndrome pellagroide (62), o que se explica provavelmente por dependerem os dois processos de factores diversos pertencentes ao complexo G.

Clinicamente, essa paralysia pode confundir-se com o rachitismo e é necessario tel-a em mente ao diagnosticar esta ultima manifestação.

Germinabilidade. Bethke e Kennard verificam a acção favoravel, sobre a germinabilidade, de factor ou factores communs ao leite, farinha de folha de alfafa, bons fenos e verduras em geral, factores que devem ser associados á vitamina D, essencial segundo elles. Bethke e Colls. referem mais tarde a acção benefica de figado secco,

levedo autoclavado e sôro de leite secco, sobre a germinabilidade, acção que attribuem ao complexo vitaminico G; a conclusão identica chegam HALPIN e COLLS. trabalhando com dietas deficientes em vitamina G e observando a baixa germinabilidade dos ovos produzidos em taes circumstancias. NORRIS deixa bem clara a acção da vitamina G sobre a germinabilidade.

AVITAMINOSE K

Uma doença experimental de pintos produzida por DAM e SCHONHEYDER (1934) e caracterizada por tendencia a grandes hemorrhagias (subcutaneas, musculares e estomacaes) é reconhecida em 1935 por DAM como derivando de uma deficiencia em vitamina nova, por elle chamada K, liposoluvel e thermoestavel, abundante no branco da couve secca, no espinafre, na alfafa secca, cenoura secca, no figado secco de porco.

ANESTHESIA

Parece util resumir os principaes dados sobre uso de anesthesicos em aves; o assumpto não foi tratado no livro. O hydrato de chloral por via endovenosa (0.2 - 0.4) permitte anesthesia solida, que se manifesta em dois minutos e dura até uma hora, em gallinhas (HOLE). Com o amytal sodico, FRETZ obtém anesthesia até de 4 horas (0.1 gr. por cc.), via endovenosa, sendo necessario injectar muito lentamente. WARREN e SCOTT recommendam o Nembutal, via endovenosa, dose 0.5 - 0.75 cc.; a anesthesia dura 2 horas e pode prolongar-se pelo uso de doses addicionaes da droga. ELLIS, com o barbital (em pombos) e KOPPANYI com o barbital sodico (em gallinhas) não obtêm resultados satisfactorios.

A butyna é reconhecida como excellente anesthesico local, recommendada por SEEBE, que julga superior á cocaina.

NOTA

Nos Proceedings da Royal Zoological Society de Londres encontram-se periodicamente referencias a animaes mortos no seu Jardim Zoologico; muitas dessas referencias deixaram de ser consignadas no livro. A pessoa interessada no assumpto não deverá esquecer de correr de maneira systematica tal revista.

ABSTRACT

The authors who have just published a treatise on poultry-diseases (Molestias das Aves — Tratado de Ornithopathologia, por J. REIS *e* P. NOBREGA, *com a collaboração de* A. S. REIS) *present in this paper some information concerning important publications that appeared before 1936 and not referred to in their book. The most important subjects they discuss deal with some respiratory (laryngotracheitis and bronchitis) and nutrional diseases (avitaminosis G and K).*

BIBLIOGRAPHIA

1 — BARGER, E. H. e CARD, L. E. — 1935 — Diseases and parasites of poultry. Lea and Febiger, Philadelphia.

2 — BEACH, J. R. e SCHALM, O. W. — 1936 — A filterable virus distinct from that of laryngotracheitis, the cause of a respiratory disease of chicks. *Poultry Science*, **15**: 199-206.

3 — BEAUDETTE, F. R. — 1933 — Infectious laryngotracheitis. *Atti del V. Cong. Mond. Pollic.*, 3.o sez., 92: 1-6.

4 — BEAUDETTE, F. R. e HUDSON C. B. — 1930 — Bronchitis in poultry. *New-Jersey Agr.*, **12**: 3-4.

5 — BENEDICT, S. R. — 1915 — Studies on the uric acid metabolism. *Jour. Biol. Chemistry*, **20**: 633.

6 — BETHKE, R. M. — 1933 — Types of leg disorders affecting growing chickens. *Jour. Am. Vet. Med. Ass.*, **82**: 476-479.

7 — BETHKE, R. M. e cols. — 1931 — A type of nutritional leg paralysis affecting chicks. *Poul. Sc.*, **10**: 355-368.

8 — BETHKE, R. M. e cols. — 1933 — Relation of the vitamin G complex to hatchability and nutritive value of eggs. *Poul. Sc.*, **12**: 332.

9 — BETHKE, R. M. e KENNARD D. C. — 1930 — The limit of vitamin D in the production of hatchable eggs. *Proc. 4 world's poul. Cong.*: 342-350.

10 — BISHOPP, F. C. e WAGNER, R D. — 1931 — Nicotin in the control of ectoparasites of poultry. *Jour. Econ. Ent.*, **24**: 56-61.

11 — BRANDLY, C. A. — 1932 — An acute infectious omphalitis in baby chicks. *Poul. Sc.*, **11**: 279-282.

12 — BRANION, H. D. — 1934 — The rôle of cereal grains in avian nutrition. *Proc. 5 Worlds Poul. Cong.*, **2**: 575-580.

13 — BUCKLEY, J. S., BUNYEA, H. e CRAM, E. B. — 1931 — Diseases and parasites of poultry. *U. S. Dept. Agr. Farmer's bul.*, 1652.

14 — BURCKARDT, J. L. — 1912 — Ueber das Blutbild bei Huehnertuberkulose. *Zeit. f. Immuntsfsch.*, **14**: 544-604.

15 — CERNAIANU C. — 1934 — Les maladies infectieuses des volailles. Off. Intern. *Epiz. Bul.* **8**: 241-323.

16 — DAM, H. e SCHONHEYDER, F. — 1934 — A deficiency disease in chicks resembling scurvy. *Bioch. Jour.*, **28**: 1355-1359.

17 — DAM, H. e SCHONHEYDER, F. — 1935 — The occurrence and chemical nature of vitamin K. *Bioch. Jour.*, **30**: 897-901.

18 — DODGE C. W. — 1935 — Medical Mycology, Mosby Co., St. Louis.

19 — DUKES, H. H., SCHWARTE, L. H. e BRANDT, A. E. — 1932 — cit. em Gonzaga.

20 — DUNLAP, G. L. — 1932 — Ataxia of chicks. *Jour. Am. Vet. Med. Ass.*, **33**: 880-885.

21 — DYER, H. M. e ROE, J. H. — 1934 — The chemistry of the blood of normal chickens. *Jour. Nutr.*, **7**: 623.

22 — ELLIS, M. M. — 1923 — Barbital narcosis and hypothermia in pigeons. *Jour. Pharm. and. Exp. Ther.*, **21**: 323-342.

23 — FEKETE, L. — 1935 — New views on the etiology and prophylaxis of fowl cholera. *Allat. Lapok.*, **58**: 130-131 (ref. em *Vet. Bul.*).

24 — FISCHER, W. — 1928 — Favus beim Kanarienvogel. *Derm. Woch.*, **87**: 1359-1361.

25 — FREITAS, J. F. T. e ALMEIDA, J. L. — 1935 — O genero Capillaria Zeder e as Capillarioses nas aves domesticas. *Rev. Dept. Nac. Prod. An.*, **4, 5, 6**: 311-363.

26 — FRETZ, V. C. — 1932 — Anesthetizing poultry. *Vet. Med.*, **27**: 109.

27 — FURTH, J. — 1932 — Immunity phenomena in transmissible leukosis of fowls. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **29**: 1236-1238.

28 — FURTH, J. — 1935 — Lymphomatosis in relation to fowl paralysis. *Arch. Path.*, **20**: 379-428.

29 — FURTH, J. e STUBBS, E. L. — 1934 — Tissue culture studies on relation of sarcoma to leukosis of chickens. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **32**: 381-383.

30 — GERLACH, F. — 1934 — La standardisation des produits biologiques. *Off. Int. Epiz. Bul.*, **8**: 156-191.

31 — GIBBS, C. S. — 1933 — Bronchitis of baby chicks. *Poul. Sc.*, **12**: 46-48.

32 — GIBBS, C. S. — 1933 — Filterable virus carriers. *Jour. Inf. Dis.*, **53**: 169-174.

33 — GIBBS, C. S. — 1935 — The etiology of epidemic colds in chicks. *Science*, **81**: 345-346.

34 — GIBBS, C. S. — 1935 — Ultrafiltration experiments with the viruses of laryngo-tracheitis and corysa. *Jour. Bact.*, **30**: 411-417.

35 — GIBSON, A. — 1930 — Insects and other external parasites in Canada. *Sci. Agr.*, **11**: 208-220.

36 — GILBERT, S. J. e SIMMINS, G. B. — 1931 — Observations on a disease of fowls due to a filterable virus and associated with leucocytic inclusions. *Jour. Camp. Path.*, **44**: 157-169.

37 — GONZAGA, A. C. — 1934 — A contribution to the chemical study of chicken blood. *Rept. of the New-York State Vet. College for the year 1933-1934*: 53-57.

38 — HALPIN, J G. e cols. — 1933 — Vitamin G inadequate in many retions for laying hens. *Wisc. Sta. Bul.*, 425.

39 — HAUGE, S. M. e CARRICK, C. W. — 1926 — A differentiation between the water soluble growth promoting and anti-neuritic substances. *Jour. Biol. Chem.*, **69**: 403-413.

40 — HEIMAN, V. — 1935 — The relative vitamin G content of dried whey and dried skimmilk. *Poul. Sc.*, **14**: 137-146.

41 — HEIMAN, V. e NORRIS, L. C. — 1933 — The relation of vitamin G content of milk sugar feed (dried whey) and dries skimmilk. *Poul. Sc.*, **12**: 332.

42 — HENDRICKSON, J. M. e HILBERT, K. F. — 1932 — A new and serious septicemia disease of young ducks. *Corn. Vet.*, **22**: 239-252.

43 — HEUSER, G. F. — 1930 — Discussion, *Proc. 4 World's Poul. Cong.*, London: 339, 340.

44 — HEUSER, G. F. — 1935 — A preliminary report on the vitamin G requirement of turkeys. *Poul. Sc.*, **14**: 376-378.

45 — HILL, A. B. — 1934 — The inheritance of resistance to bacterial infection in animals species. *Med. Res. Council*, Sp. Report Series, n.º 196.

46 — HOLE, N. — 1933 — Chloral hydrate as a general anesthetic for the fowl. *Jour. Comp. Path. and Ther.*, **46**: 47-49.

47 — HOLE, N. e PURCHASE, H. S. — 1931 — Arthritis and periostitis in pheasants. *Jour. Comp. Path. and Ther.*, **44**: 252-257.

48 — HUTT, F. B. — 1932 — Eight new mutations in the domestic fowl. *Proc. Sixth Int. Cong. Gen.*, **2**: 96-97.

49 — HUTT, F. B. e BOYD, W. L. — 1935 — Idiopathic hypoparathyroidism and tetany in the fowl. *Endocrinology*, **19**: 398-402.

50 — HUTT, F. B. e CHILD G. P. — 1934 — Congenital tremor in young chicks. *Jour. Her.*, **25**: 341-350.

51 — Jensen, J. — 1935 — Ueber die *Salmonella enteritidis* aus der Hausente. *Cent. f. Bakt.*, I, O., **135**: 414-421.

52 — Johns, M. D. — 1934 — A study of punctate stippling in the lead poisoning of wild ducks. *Jour. Lab. and Clin. Med.*, **19**: 514-517.

53 — Johnson, E. P. e Anderson, G. W. — 1936 — Pullorum disease in turkeys. *Jour. Inf. Dis.*, **58**: 337-341.

54 — Jungherr, E. — 1935 — Diseases of brooder chicks. *Storrs Agr. Exp. Sta. Bul.*, 202.

55 — Komarov, A. e Beaudette, F. R. — 1932 — Carriers of infectious bronchitis. *Poul. Sc.*, **11**: 335-338.

55-a — Koppanyi. T. e Murphy, W. S. — 1933 — Effect of barbiturates in the domestic fowl. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **31**: 375-376.

56 — Lambert, W. V. — 1932 — Natural resistance to disease in chicken. *Jour. Immun.*, **23**: 229-260.

57 — Lambert, W. V. e Knox, C. W. — 1928 — The inheritance of resistance to fowl typhoid in chickens. *Iowa State College Jour. Sci.*, **2**: 179-187.

58 — Macy, R. W. — 1934 — Studies on the taxonomy, morphology and biology of *Prosthogonimus macrorchis* Macy, a common oviduct fluke of domestic fowls in America. *Minnesota Agr. Exp. Techn. Bul.*, 98.

59 — Manninger, R. — 1934 — Considerations critiques sur l'etiologie et la prophylaxie de la septicemie hemorrhagique. *Off. Int. Epiz.*, **8**: 118-155.

60 — Mc Gowan, J. P. e Emslie, A. R. G. — 1934 — Rickets in chickens. *Bioch. Jour.*, **28**: 1503-1512.

61 — Newsom, I. E. e Stout, E. N. — 1933 — Proventriculitis in chickens due to flukes. *Vet. Med.*, **28**: 462.

62 — Norris, L. C. — 1934 — The vitamin G requirements of poultry. *Atti del V Cong. Mond. Pollicoltura.*, **2**: 512-520.

63 — Norris, L. C. e cols. — 1930 — Is the chief value of milk for feeding poultry due to the presence of a new vitamin? *Poul. Sc.*, **9**: 133-140.

64 — Norris, L. C. e cols. 1931 — The occurrence of a paralysis in chicks of nutritive origin. *Poul. Sc.*, **10**: 93.

65 — Patterson, F. D. Jor. — 1927 — Nutritional bumblefoot. *Vet. Med.*, **22**: 534-535.

65-a — Patterson, F. D. — 1928 — Gout in poultry. *Vet. Med.*, **23**: 73-74.

66 — Payne, L. F. — 1929 — A new method of controling feather mites. *Jour. Econ. Entom.*, **22**: 819.

67 — Rebrassier, R. E. e Martin, E. D. — 1932 — *Syringophilus bipectinatus* a quill mite of poultry. *Poul. Sc.*, **76**: 127.

68 — Ringrose, A. T. e cols. — 1931 — The occurrence of a pellagra like syndrome in chickens. *Poul. Sc.*, **10**: 166-177.

69 — Roekel, H. — 1935 — A study of variation of *Salmonella pullorum*. *Mass. Agric. Exp. Sta. Bul.*, 319.

70 — Schoenberg, F. — 1935 — Ueber die Infektion von Enteneiern mit Breslau-Bakterien vom Eileiter aus. *Berl. tier. Woch.*, **51**: 474-476.

71 — Sconheyder, F. — 1935 — The quantitative determination of vitamin K. *Biochem. Jour.*, **30**: 890.

72 — Scott, H. M., Serfontein, P. J. e Sieling, D. H. — 1933 — Blood analyses of normal bronze turkeys. *Poul. Sc.*, **12**: 17-19.

73 — Seastone, V. C. — 1935 — Pathogenic organisms of the genus Listerella. *Jour. Exp. Med.*, **62**: 203-212.

74 — SKRJABINE, K. J. e SCHULZ, R. S. — 1934 — La lutte contre les helminthoses des volailles. *Bull. Off. Int. Epiz.*, **8**: 379-413.
75 — SPARAPANI, G. C. — 1935 — Patologia e Terapia del pollame. Battiato, Catania.
76 — STUBBS, E. L. e FURTH, J. — 1935 — The relation of leukosis to sarcoma in chickens. *Jour. Exp. Med.*, **61**: 593-615.
77 — STYLIANOPOULOS, M. e DEBONERA, G. — 1935 — Les maladies des volailles en Gréce. *Rec. Med. Vet. Alf.*, **111**: 476.
78 — SWEEBE, E. E. — 1925 — Butyn in avian surgery. *Vet. Med.*, **20**: 491.
79 — VEENENDAAL, H. — 1935 — The basophilic granulations in red blood cells in lead poisoning. *Tijdschr. diergeneesk.*, **62**: 244-253 (ref. *Vet. Bul.*, **6**: 550).
80 — VOLKMAR, F. — 1929 — Omphalitis in baby chicks and turkeys. *Jour. Am. Vet. Med. Ass.*, **75**: 647-649.
81 — WALKER, G. P. — 1927 — A blackfly — *Simulium bracteatum* — fatal to goslings. *Canad. Entom.*, **59**: 123.
82 — WARREN, D. C. e SCOTT, H. M. — 1934 — The time factor in egg formation. *26 annual meeting Poul. Sc. Ass.*, agosto.
83 — WEINZIRL, J. — 1917 — Trichomoniasis of chicks. *Jour. Bact.*, **2**: 441-445.
84 — WESSELMANN, A. — 1935 — Bakteriologische Untersuchungen von Enten-Eiern. These, Berlim.
85 — WHITEHEAD, W. E. e MAW, W. A. — 1934 — Control of the Northern Fowl mite. *Sci. Agric.*, **15**: 126.
86 — WILGUS, H. S. e COLS — 1934 — Studies of the essential nutritive properties of common protein supplements used in poultry rations. *Atti del V cong. Mond. Pollic.*, **2**: 541-546.

———o———

DIAGNOSTICO DA GRAVIDEZ NA EGUA

POR

M. Rocha e Silva & E. Trapp

Trabalho do Instituto Biologico de S. Paulo

São conhecidas as difficuldades de um diagnostico clinico precoce da gravidez nos grandes animaes de criação.

Certamente, as modificações anatomicas enormes que soffre o tracto genital da egua por exemplo, são bastante conspicuas, para que se possa ao fim de algum tempo, 2 mezes no minimo para um profissional bastante experimentado, diagnosticar com certo gráo de segurança a gravidez. Mas não é menos certo que os processos propedeuticos utilizados para um tal diagnostico atemorizam o proprietario do animal, mórmente os criadores de puro sangue, pela facilidade com que, em taes animaes, se produz o aborto (HART & COLE, KÜST & ZUMBAUM).

Por outro lado um diagnostico precoce da gravidez na egua se impõe, pela limitação da época do anno (Agosto a Dezembro) em que habitualmente se offerece a egua para a cobertura. O desconhecimento precoce da efficiencia de uma cobertura, traz como consequencia um prejuizo importante não só para os grandes criadores, que são obrigados a dispensar a egua no pasto durante o tempo da gravidez, como tambem para os pequenos, que habitualmente pagam o direito á cobertura por um garanhão puro sangue, e são obrigados a repetil-a, com onus de transporte e riscos de viagem, depois de um tempo mais ou menos longo, orientados por signaes vagos, como novo cio, indicios clinicos etc..

Depois dos trabalhos de FELS (1928), que demonstrou o augmento quantitativo dos hormonios sexuaes no sangue das mulheres gravidas, e dos trabalhos fundamentaes de ASCHHEIM & ZONDEK (1928), que mostraram a presença, no sangue e na urina de mulheres gravidas, de hormonios semelhantes aos gonadotropicos da hypophyse, passou a ser uma preoccupação continua descobrir-se um test biologico, rapido e seguro, que permitisse um diagnostico de grande probabilidade da gravidez na egua.

Não se trata de fazer um ASCHHEIM-ZONDEK classico. De facto, ZONDEK mostrou que os hormonios do lóbo anterior da hypophyse não são eliminados pela urina, durante a prenhez, na egua, ou o são de maneira muito discreta e irregular.

Trata-se de demonstrar a existencia de um quadro hormonal typico na urina ou no sangue da egua prenhe. (KÜST & ZUMBAUM).

A partir de 1929, Cole & Hart realizaram pesquisas na egua gravida, analysando o conteúdo hormonal do sôro de 10 eguas prenhes, em differentes épocas da gravidez. Concluiram que o sôro sanguineo é rico em hormonios da hypophyse entre o 80.º e o 180.º dia depois da cobertura. A partir do 220.º só era possivel evidenciar a presença de hormonio ovariano, e antes do 42.º dia nenhum signal era encontrado, de um augmento do conteúdo hormonal do sôro das eguas prenhes.

Em 1930 Zondek propoz um diagnostico hormonal da egua, baseado na presença de fortes doses de folliculina na urina (até 400.000 unidades camondongo por litro). Dois ratos infantis (25 a 30 grammas) eram injectados 6 vezes com 0,05 cc. de urina; um outro recebia 6 injecções de 0,1 cc. de urina de egua prenhe. A analyse do conteúdo vaginal permittia, pela technica dos esfregaços, decidir se na urina examinada a taxa de folliculina attingia a um certo valor, sufficientemente alto para se decidir se a egua estava ou não prenhe. O test era bastante fiel e denunciava a gravidez com uma falha de 2,5 %. Schäfer (1931) confirmou os resultados de Zondek em 31 casos, com 100 % de fidelidade da prova. Küst (1932) fez 644 provas urinarias de eguas prenhes por esse mesmo methodo, chegando á conclusão de que, a partir da 8.ª semana, era possivel um diagnostico preciso da gravidez com uma porcentagem de falhas inferior a 3 %.

Por um estudo comparativo entre o quadro hormonal da urina e do sangue, Küst & Zumbaum (1931) chegaram á conclusão de que no primeiro terço da gravidez se podia determinar com absoluta certeza a prenhez, pela verificação do augmento de teôr dos 3 hormonios: folliculina, hormonios gonadotropicos A e B, no sangue circulante.

Em 1933 Glud & Pedersen-Bjergaard empregaram o methodo de Cole & Hart, utilizando o sôro como material de pesquiza. Em 55 eguas, das quaes 29 gravidas, os resultados de Cole & Hart puderam ser confirmados, verificando-se um augmento apreciavel dos hormonios hypophysarios durante o periodo comprehendido entre o 42.º e o 125.º dia. A partir deste dia diminuia sempre o hormonio da hypophyse em circulação e augmentava a taxa do hormonio ovariano. Antes do 40.º dia nenhum resultado positivo pôde ser obtido.

Em 1933 Schätzl fez um estudo comparativo dos methodos de Zondek e de Küst & Zumbaum, Cole & Hart, chegando á conclusão de que, entre o 55.º dia e o 250.º era possivel, pela prova sanguinea, determinar com grande precisão se o animal estava ou não prenhe. Antes do 55.º dia era mais ou menos impossivel; depois do 250.º, o resultado era incerto.

Outros pesquizadores, como Becher, Wolthers, Wiethoff e outros, estabeleceram ainda a possibilidade de um diagnostico certo

da gravidez a partir da 6.ª semana, pela pesquiza dos hormonios pre-hypophysarios no sôro.

Finalmente Magnusson (1934) pôde confirmar todos esses resultados empregando não só o methodo de Aschheim & Zondek, como o de Friedmann & Schneider, em coelhos, para a pesquiza dos hormonios hypophysarios no sôro sanguineo. Naquelle intervallo do 40.º dia ao 200.º, a gravidez pôde ser diagnosticada com um erro de 1,3 %; antes e depois dessas datas o diagnostico pela prova sanguinea é incerto, ou impossivel.

Póde-se concluir que são unanimes as conclusões dos autores referidos, que estabelecem a possibilidade de um diagnostico seguro, na primeira metade da gravidez e a partir do 40.º dia depois da cobertura, pela analyse do conteúdo hormonal do sôro sanguineo das eguas prenhes. A simplicidade do test não admitte contestação, exigindo apenas que se possúa uma colonia de ratos ou camondongos, sempre prospera, de maneira a se obter a qualquer momento um certo numero de animaes infantis, de peso determinado (6 a 8 grammas para o camondongo, 25 a 30 grammas para o rato). São feitas 5 a 6 injecções de quantidades apropriadas de sôro, em 3 animaes, e a autopsia no 5.º dia. A interpretação dos resultados é identica á da prova classica de Aschheim-Zondek com a urina de mulher gravida. A retirada do sôro da jugular, asepticamente, e conservação para a remessa ao laboratorio, póde ser feita com toda a simplicidade e segurança.

A partir do 5.º mez de gravidez, entretanto, o experimentador está menos armado, para um diagnostico de grande probabilidade.

A prova sôro-sanguinea não tem então a segurança que possue nos primeiros mezes da gestação. Os hormonios da hypophyse praticamente desapparecem da circulação e a folliculina é encontrada no sôro em quantidades muitas vezes discreta. O diagnostico deve ser feito na urina, onde a folliculina passa a ser encontrada então em doses gigantescas. Mas a simplicidade do test sanguineo é substituida aqui pelo incommodo do test urinario. O catheterismo das eguas puro sangue não é facil, dado o nervosismo de taes animaes, e ainda pela relutancia do proprietario em deixar submetter o animal a certas manobras, que, na sua opinião, produzem o aborto. De outro lado a urina é um material que, se não for obtido rigorosamente aseptico e enviado com rapidez ao laboratorio, soffre deteriorações altamente nocivas para os animaes que vão ser injectados. E' verdade que o test chimico preconizado por Cuboni (1934) e que será descripto detalhadamente na parte experimental, não tem este ultimo inconveniente, mas exige, para contornar o catheterismo, uma complicada colheita de urina no momento da micção, em bolsas de couro incommodas, adaptadas á parte trazeira

do animal, o que só é possivel em animal de cocheira, exigindo ainda um dispositivo complicado para fixar a bolsa a certa distancia da vagina do animal.

O trabalho que se segue foi-nos suggerido por O. G. BIER, com o duplo fim de vulgarizar a technica de diagnostico da gravidez na egua e comparar o valor pratico dos differentes tests que para isso têm sido propostos.

Damos aqui os primeiros resultados obtidos, todos referentes ao periodo comprehendido entre o 5.º mez e o final da gravidez, que é como vimos o que foi menos explorado, e que exige um trabalho complementar para esclarecer varios detalhes.

Assim, por exemplo, está ainda por decidir se se deve abandonar definitivamente, nesse periodo da gravidez, a prova sôro-sanguinea, muito commoda, pela prova chimica ou test biologico, na urina. O esclarecimento desse ponto foi um dos objectivos do nosso trabalho.

PARTE EXPERIMENTAL

Colheita de material — O sangue era colhido com agulha e seringa rigorosamente esterilizadas, por puncção da jugular. De cada vez eram colhidos cerca de 25 cc. em tubo esteril. No laboratorio o sangue era mantido 2 horas na estufa e o sôro, separado do coagulo por centrifugação, era mantido na geladeira.

A urina era retirada com sonda de borracha semi-rigida, tão asepticamente quanto possivel e mantida em recipientes esterilizados. No laboratorio era sempre filtrada em papel e mantida na geladeira até o momento das provas. Para a injecção em camondongos, a urina e sôro eram aquecidos a 37º. SCHÄTZL (1933) e ZONDEK (1930) referem que a mortalidade de camondongos, pela injecção de urina, oscillava entre 39 % e 42 %. Tomadas todas as precauções referidas acima, a mortalidade dos animaes não foi superior a 10 %, tendo morrido 3, de 48 camondongas injectadas, em seguida á injecção de uma unica amostra. Certamente, tornando o methodo de uso corrente e diario, a colheita de material nem sempre poderá ser feita com todo o rigor descripto. Aliás a alta porcentagem referida pelos autores acima, decorria, segundo elles, da impossibilidade de obter sempre material bem conservado.

Tests biologicos e provas chimicas — Cada amostra de urina, depois de um ensaio chimico previo, segundo o methodo preconizado por CUBONI (1934), era utilizada para a prova da folliculina pelo test de ALLEN-DOISY. Esta ultima prova era realizada em 3 camondongas (de 20 a 30 grammas de peso), castradas pelo menos uma semana antes. Antes da injecção do material a pesquizar, eram feitos, em dias segui-

dos, esfregaços vaginaes, e as camondongas só eram utilizadas depois de se verificar um diestro permanente. Cada camondonga recebia determinada dose de urina, fraccionada em 3 injecções, pela manhã e á tarde e pela manhã do dia seguinte, o que permittia uma indicação approximada do numero minimo de unidades ([1]) de folliculina por litro. As camondongas injectadas eram examinadas com a technica habitual dos esfregaços vaginaes. Eram feitos diariamente, pela manhã e á tarde, 2 esfregaços, durante 4 dias successivos. Um próestro typico e um metaestro tambem typico eram considerados como provas positivas. As dosagens referidas nas tabellas indicam sempre aquelle limite minimo de U. C. por litro, e não estão absolutamente em relação com a quantidade total de folliculina na urina. As provas de folliculina no sôro foram feitas com o mesmo criterio, indicando os numeros sempre o minimo de unidades alcançado nas condições de cada ensaio.

A prova de ASCHHEIM-ZONDEK no sôro era feita em tres camondongas impuberes (de 6 a 8 grammas). De regra eram injectadas tres quantidades 0,2 cc., 0,4 cc., 0,6 cc., 5 vezes em 3 dias, autopsia no 5.º dia. O tracto genital era analysado cuidadosamente, segundo o methodo classico da prova. O effeito de doses elevadas de folliculina era observado no utero e vagina, e os resultados, indicados na tabella, são puramente estimativos.

Test chimico na urina — Empregamos sempre o test da fluorescencia verde, produzida pela acção do acido sulfurico concentrado sobre a folliculina, descoberto por WIELAND, STRAUB & DORFMÜLLER (1929) e empregado pela primeira vez por CUBONI (1934), para o diagnostico da prenhez na egua.

Cinco cc. de urina filtrada em papel eram tratados com 1 cc. de HCl concentrado e mantidos em banho-maria, em fervura durante 10 minutos. A esses 6 cc. de urina acidificada, eram addicionados 6 cc. de benzol. Depois da agitação demorada, o benzol era separado e tratado com 1 cc. de H_2SO_4 a 50 %. A mistura benzol, acido sulfurico agitada, era deixada em repouso durante algum tempo. No caso de uma reacção positiva, o liquido sob o benzol é perfeitamente transparente, com um ligeiro tom alaranjado. A' luz incidente apresenta uma forte fluorescencia verde. O aquecimento a 70°, preconizado por CUBONI antes da leitura final, pareceu-nos inconveniente, por produzir ordinariamente uma turvação que torna menos nitida a fluorescencia.

Experimentamos ainda, sem grandes vantagens sobre o methodo descripto acima, a extracção pelo ether, depois da fervura com o

---

([1]) A unidade camondongo representa aqui a dose minima capaz de provocar o estro em camondongas castradas, dentro de 4 dias depois da primeira injecção.

HCl concentrado. O extracto ethereo era lavado varias vezes com solução de carbonato de sodio a 20 %. As aguas de lavagem, desprezadas. A lavagem era continuada até que a interface ether, sol. de carbonato, se apresentasse limpa (PINCUS & ZAHL, 1937). O ether era em seguida evaporado e o residuo tratado a frio directamente com 1 cc. de H_2SO_4 a 50 %. A leitura era feita como na prova anterior. Sem duvida, algumas das fluorescencias obtidas por este ultimo methodo eram incomparavelmente mais bellas que pelo methodo de CUBONI, mas nenhuma vantagem pratica apresenta para o diagnostico da prenhez.

RESULTADOS

A tabella 1 resume os resultados obtidos nas provas em que foi utilizada a urina como material para diagnostico. As indicações da intensidade do test chimico representam uma estimativa approximada da intensidade da fluorescencia obtida pelo tratamento pelo H^2SO^4

TABELLA 1

Resumo dos ensaios realizados com urinas de egua para o diagnostico da gravidez.

N.o da egua	N.o do material	Tempo de gravidez (provavel)	Test chimico	Dosagem folliculina Prova ALLEN-DOISY	Indicações certas sobre a gravidez
6	6	281 dias	+ +	> 3.300	+
7	7	230 »	+ + +	> 3.300	+
8	8	223 »	+ +	> 3.300	+
9	9	0	—	< 700	—
10	10	0	—	não foi feita	—
6	11	300 dias	+ + +	> 6.600	+
7	12	245 »	+ + +	> 6.600	+
8	13	238 »	+ + +	> 17.000	+
7	14	260 »	+ + +	> 33.300	+
8	15	242 »	+ + +	> 33.300	+
11	16	186 »	+ +	> 1.700	+
12	17	0	—	não foi feita	—
13	18	cio (x)	+ +	> 3.300	—
14	19	0	—	< 1.100	—
8	20	242 dias	+	não foi feita	+
7	21	273 »	+	» » »	+
15	22	210 »	+	> 3.300	+
16	23	180 »	—	> 3.300	+

(x) Signaes discretos de cio.

TABELLA 2

Resumo dos ensaios realizados com sôros para o diagnostico da gravidez.

N.º da egua	N.º do material	Tempo da gravidez (provavel)	Test de ASCHHEIM-ZONDEK		Dosagem de folliculina (Prova ALLEN-DOISY)	Indicações certas sobre a gravidez
			Hormonios Hypophys.	Folliculina		
1	1	226 dias	0	+	± 2.500	+
2	2	160 »	0	0	< 330	—
3	3	150 »	0	? (xx)	± 2.000	+
4	4	263 »	0	+	não foi feita	+
5	5	196 »	0	+ + +	» » »	+
6	6	281 »	0	+ +	> 2.500	+
7	7	230 »	0	+ +	> 2.500	+
8	8	223 »	0	+ +	> 2.500	+
9	9	0	0	0	< 1.000	—
10	10	0	0	0	< 1.000	—
6	11 (x)	300 dias	0	?	< 1.700	+
7	12	245 »	0	?	> 2.500	+
8	13	238 »	0	+	> 1.700	+
7	14	260 »	0	?	não foi feita	+
8	15	242 »	0	?	» » »	+
11	16	186 »	0	?	» » »	+
12	17	0	não foi feito		< 1.000	—
13	18	cio (xxx)	não foi feito		> 3.300	—
14	19	0	não foi feito		< 1.000	—
8	20	242 dias	não foi feito		> 3.300	+
7	21	273 »	não foi feito		> 3.300	+
15	22	210 »	não foi feito		> 3.300	+
16	23	180 »			± 3.300	+

(x) 11 dias depois, a egua n.º 11 pariu. O teôr de folliculina no sôro é baixo.
(xx) Os resultados assignalados com (?) indicam que não havia nenhuma alteração apreciavel no utero. Nesses casos a vagina era encontrada aberta.
(xxx) Signaes discretos de cio.

concentrado. A ultima columna indica um diagnostico de certeza, ou pelo parto, ou por signaes grosseiros e evidentes colhidos quasi ao fim da gravidez.

Pode-se ver que, na segunda metade da gravidez, o test chimico é bastante fiel. O cio representa certamente uma causa de erro porque, durante esse periodo, ha uma apreciavel eliminação de folliculina.

Küst (1932) refere a eliminação de quantidades discretas de folliculina (no maximo 1.000 U. C. por litro) durante o cio. Levando-se em conta a affirmação de Cuboni (1934) de que o test chimico

é sempre positivo desde que o numero de U. C. por litro se eleve a 2.000 (o que não é bem exacto como veremos adiante), de accordo com os resultados de Küst, durante o cio não haveria test chimico positivo. No caso da egua 13, houve entretanto uma eliminação de mais de 3.300 U. C. com um test chimico nitidamente positivo.

Como se póde ver nos casos das eguas 6, 7 e 8 o test chimico permanece positivo durante toda a segunda metade da gravidez. Isso permitte corrigir com muita simplicidade a causa de erro que advém do cio. Uma repetição do exame, com intervallo de 3 a 4 dias, póde decidir se se trata realmente de uma prenhez. Não pudemos confirmar, no caso do material 23, a affirmação de Cuboni de que um test chimico negativo coincida sempre com uma dose de folliculina inferior a 2.000 unidades. Neste caso um test chimico negativo coincidiu com um teôr de folliculina bastante elevado.

Com o sôro sanguineo foram feitos ensaios systematicos para verificar um quadro hormonal typico, que pudesse ser utilizado para o diagnostico.

Os resultados resumidos na tabella 2 mostram que a prova com camondongas impuberes, designada abreviadamente como test de Aschheim-Zondek, é por si só insufficiente para um diagnostico na segunda metade da gravidez. Com as doses elevadas que sempre empregamos para a reacção, não nos foi possivel nunca revelar a presença de hormonios gonadotropicos no sangue circulante. A observação do utero e vagina em seguida á autopsia no 5.º dia, deu, na maioria dos casos, resultados incertos. Uma unica vez, no caso da egua 5, material 5, o desenvolvimento do utero era realmente collossal, não deixando a menor duvida de uma quantidade apreciavel de folliculina em circulação. Nos outros casos de gravidez comprovada, observava-se quando muito um espessamento discreto do utero e em todos os casos a abertura da vagina. Talvez, desde que se faça a prova com um rigor absoluto, utilizando camondongas numa idade certa, esse pequeno signal da abertura da vagina possa constituir um indicio seguro de gravidez, excluida a possibilidade de cio. Esse é um ponto a ser esclarecido no futuro.

Fizemos ainda uma prova em gallinaceos infantis. O sôro da egua 7, material 12 foi injectado em pintos de 8 dias, com a technica indicada por Martins (1934), com resultados negativos.

Os resultados de dosagem de folliculina no sôro em camondongas adultas castradas, utilizando a technica dos esfregaços vaginaes (Prova de Allen-Doisy) foram mais concludentes. De regra, o teôr de folliculina era bastante augmentado. Si se exceptuam os casos de cio em que o teôr de folliculina em circulação póde ser tambem elevado,

pode-se, por uma dosagem no sôro, repetida uma ou duas vezes, dizer com uma grande probabilidade, se a egua está ou não prenhe. Os resultados parecem ter um gráo de segurança comparavel á prova chimica na urina. A commodidade da colheita de material talvez justifique o emprego do sôro para o diagnostico, desde que se repita a prova com intervallos de uma semana, o que aliás tambem deve ser feito com o test chimico.

COMO DEVE SER FEITO O DIAGNOSTICO DE GRAVIDEZ NA EGUA

Na primeira metade da gravidez, mais exactamente do 40.º ao 180.º dia, uma prova de Aschheim-Zondek no sôro sanguineo das eguas prenhes deve dar um resultado seguro, de grande probabilidade.

Os hormonios gonadotropicos hypophysarios circulam nessa época em grande quantidade, o que não acontece na segunda metade da gravidez e na egua normal, não prenhe. Uma prova em gallinaceos infantis, apezar de mais demorada, poderia talvez dar um resultado satisfactorio, mormente em lugares onde fosse difficil a acquisição de camondongas, entre 6 a 8 grammas. Esse ponto será um dos objectos de uma futura publicação.

Na 2.ª metade da prenhez, a partir do 5.º mez, o test chimico preconizado por Cuboni, na urina, dá um resultado satisfactorio, bem como uma dosagem grosseira de folliculina na urina e sôro. Póde-se admittir como limite pratico para a primeira, 3.000 unidades, isto é, um test positivo em seguida á injecção em 2 ou 3 camondongas castradas, de 0,1 cc. de urina repetida 3 vezes pela manhã e á tarde do 1.º dia e pela manhã no 2.º dia. Esfregaços vaginaes até o 4.º dia. Para o sôro pode-se estabelecer uma dosagem de 2.000 unidades como indicio de gravidez, isto é, um test positivo em seguida á injecção, repetida 3 vezes, como no caso anterior, de 0,13 cc. de sôro, em camondongas castradas, de 25 a 30 grammas. Tanto o test chimico como o test de Allen-Doisy na urina e sôro, no caso de serem positivos devem ser repetidos pelo menos uma vez, com intervallo de 4 dias a 1 semana, para se excluir a possibilidade de cio, que póde coincidir com um test chimico positivo e elevadas doses de folliculina na urina e no sôro.

ABSTRACT

1 — This paper deals with the diagnosis of pregnancy in the mare.

2 — The different methods proposed for this diagnosis have been analysed.

3 — Tests were made with samples of blood serum and urine, collected from 16 mares; 11 of them were pregnant, 4 normal and 1

in heat. This material used for diagnosis was always collected between the 5th month and the final period of pregnancy. Three of the mares were submitted to examination each 15 days.

4 — A high amount of estrin was always found in the blood of pregnant mares, which permits, with great probability, the positive diagnosis of pregnancy. A minimum amount of 2.000 mouse units per liter is suggested for a positive diagnosis, that is 0,4 cc. of blood serum, injected in three fractions, resulting in a positive smear after 4 days.

5 — The same test with urine permits also a diagnosis with great probabiilty. In this case it was suggested a higher minimum amount of 3.300 mouse units per liter. This amount is attained with 0,1 cc. of urine, injected three times in three spayed mice. Smears during 4 days.

6 — A positive test with urine or serum, made in accordance with the indications above, permits a diagnosis as exact as that of the chemical urinary test preconized by CUBONI.

7 — During heat high amounts of estrin are in circulation and also eliminated, which may also occur with a positive chemical urinary test, and positive biological tests with urine and serum. This cause of error can be easily removed with two or three examinations every four days.

BIBLIOGRAPHIA

1 — CUBONI, E. — 1934 -- Una rapida reazione di gravidanza nella cavalla. *La Clin. Vet.,* 57, 83-93.

2 — CUBONI, E. — 1935 — Una rapida reazione di gravidanza nella cavalla. Nota secunda. *La Clin. Vet.,* 58, 713-726.

3 — HART, G. H. and COLE, H. H. — 1932 — A practical method for the diagnosis of pregnancy in the mare. *Journ. Am. Vet. Ass.,* 33, 604-613.

4 — KÜST und ZUMBAUM — 1931 — Vergleichende Untersuchungen über die Trächtigkeitsfeststellung. *Deutsch. Tier. Woch.,* 50, 761-763.

5 — MAGNUSSON, M. H. — 1934 — Le diagnostic de la gestation chez la jument au moyen du sérum sanguin. *Rev. Gen. Med. Vet.,* 43, 321-336.

6 — MARTINS, T. — 1934 — Developpement précoce des caractères sexuels chez des gallinacés, etc., *Comp. Rend. Soc. Biol.,* 117, 1255-1257.

7 — PINCUS, G. and ZAHL, P. A. — 1937 — The biogenesis of primary sex hormones. I. The fate of estrins injected into the rabbit. *Journ. of Gen. Phys.,* 20, 879-893.

8 — SCHÄFER, W. — 1931 — Untersuchungen über die B. Zondeksche Trächtigkeitsreaktion aus dem Harn bei Stuten. *Klin. Woch.,* 41, 1905-1906.

9 — SCHÄTZL, J. -- 1933 — Beitrag zur hormonalen Trächtigkeitsdiagnose bei Stuten. *Münch. Tier. Woch.,* 3, 29-30.

10 — ZONDEK, B. — 1930 — Hormonale Schwangerschaftsreaktion aus dem Harn bei Mensch und Tier. *Klin. Woch.,* 49, 2285-2289.

———o———

RELAÇÃO DAS DOENÇAS E FUNGOS PARASITAS OBSERVADOS NA SECÇÃO DE PHYTOPATHOLOGIA DURANTE OS ANNOS 1935 e 1936

POR

A. A. Bitancourt

Trabalho do Instituto Biologico de S. Paulo

Conforme foi feito para os biennios 1931-1932 (2) e 1933-1934, (10) a presente relação comprehende as doenças das plantas cultivadas no Estado de São Paulo e os fungos parasitas encontrados sobre as mesmas plantas, observados durante o biennio 1935 e 1936 nos laboratorios da Secção de Phytopathologia. As determinações foram feitas pelo autor e seus collaboradores da Secção, Drs. R. Drummond Gonçalves, J. G. Carneiro, S. Corrêa Arruda e E. E. Warner. Alguns fungos foram determinados ou confirmados por especialistas do paiz e do estrangeiro. As plantas não assignaladas na presente relação não apresentaram, de nosso conhecimento, doenças dignas de registro, differentes das que já foram assignaladas nos relatorios anteriores.

ALGODOEIRO (3)

Gossypium spp.

O «rasgamento» das folhas, caracterisado por uma dessecação e fendilhamento da epiderme, seguidos do rasgamento do limbo e do enrolamento das beiras das folhas, foi constatado em diversas zonas do Estado.

A «murcha» causada por *Verticillium albo-atrum* Reink. & Berth. é frequente em muitas regiões, mas só excepcionalmente se tem manifestado com grande intensidade. A repetição da cultura do algodoeiro no mesmo terreno deverá entretanto nos proximos annos augmentar os estragos produzidos pelo mal (3, 24).

A queda anormal das maçãs *(shedding* dos paizes de lingua ingleza) (18), observada em Bariry, Alfredo Guedes e Monjolinho é um phenomeno bem commum que, entretanto, nos annos normaes apresenta relativamente pouca importancia economica. As suas causas parecem as mesmas que em outros paizes algodoeiros.

Em capulhos já colhidos foi observada uma coloração amarella das fibras, tendo sido isolado um fungo, *Epicoccum* sp. que, nos meios de cultura, ou quando inoculado em capulhos sãos, produz esse pigmento amarello.

FUMO

Nicotiana tabacum L.

As doenças de virus mais frequentemente observadas foram o mosaico (26) e a mancha anular das folhas *(ring spot)*.

BANANEIRA

Musa spp.

As bananas, principalmente da variedade maçã, *(Musa sapientum* L.) vendidas nas feiras da Capital, apresentam occasionalmente manchas salientes, corticosas, de 1 a 5 mm. de diametro, com apparencia das lesões das doenças conhecidas, em outras plantas, sob o nome de verrugose. Taes manchas são ás vezes abundantes e coalescentes e provocam o rachamento da fructa. As tentativas para isolar algum microorganismo que pudesse causar essas lesões têm sido infructiferas e tudo leva a crer que ellas resultam da acção de algum insecto nas fructas ainda novas.

O fungo *Nigrospora* sp. foi isolado de bananas nanicas *(Musa Cavendishii* LAMB.) provenientes de Pedro Barros, onde produzia symptomas semelhantes á doença do «esguicho» *(squirter disease)*.

Diversas variedades de bananeira apresentam, nas secções transversaes da nervura principal das folhas, manchas pardas, que foram primeiramente constatadas em bananeiras em quarentena, na Ilha dos Porcos, e provenientes de Java e que por esse motivo crearam certo alarma. As mesmas lesões, que não parecem ter grande importancia no que diz respeito á saude da planta, foram egualmente constatadas em variedades nacionaes, em Piracicaba (1).

A doença conhecida no littoral pelo nome de «saporema» (22) apresenta symptomas geralmente attribuidos a diversas causas: broca do bulbo *(Cosmopolites sordidus* (GERM.)), murcha bacteriana *(Bacterium solanacearum* E. F. S.), asphyxia das raizes, produzida por lençol d'agua excessivamente alto, etc. Os esclerodios gigantes (mycolithos) do fungo *Polyporus sapurema* MÖLLER (23), embora geralmente considerados pelos cultivadores como a causa da doença, não parecem ter relação com qualquer alteração das bananeiras.

Citrus spp.

Certo numero de symptomas diversamente descriptos nos troncos, ramos e galhos de laranjeira doce *(Citrus sinensis* OSB.) sob o nome de «falso exanthema», e outros verificados nas folhas, e que geralmente consistem em cancros ou pustulas corticosas, formadas em consequencia da ruptura de bolsas de gomma que se desenvolveram entre camadas de tecido lenhoso, parecem ligados á falta de

boro no solo, porquanto semelhantes symptomas foram produzidos experimentalmente por Haas, na California, em plantas cultivadas em vasos, em soluções completamente destituidas desse elemento. O facto indicaria que a falta de boro nos solos do Estado e principalmente em Jacarehy, onde foram observados os symptomas mais graves (25), é muito frequente entre nós e merece ser corrigida, com pulverizações de soluções fracas de acido borico ou de borato de sodio, por exemplo.

Uma mancha das folhas de laranjeira azeda (*Citrus aurantium* L.) e laranjeira doce, foi constatada em Campinas, achando-se associado ás lesões o fungo *Septoria* sp.

O collapso do mesophyllo é uma doença commum em todo o Estado, na laranjeira doce.

A podridão estylar da limeira de Tahiti (*Citrus aurantifolia* Sw.) é de occorrencia frequente em Limeira e na Cantareira. Uma mancha pardo-escura, encontrada em laranja cravo (*Citrus nobilis* Lour. var.) e laranja doce de Limeira e Taubaté, e que provoca, ás vezes, a rachadura dessas fructas, parece manifestação da mesma doença nesses ultimos hospedes (7).

Alem dos hospedes anteriormente assignalados, a verrugose da laranja doce, causada por *Elsinoe australis* Bitancourt & Jenkins (11), foi verificada em limão seda (*Citrus aurantifolia* Sw.) (Itararé), papeda (*Citrus hystrix* DC.) e lima da Persia (*Citrus aurantifolia* Sw.) (Limeira) (11). A verrugose da laranjeira azeda, causada por *Elsinoe fawcetti* Bitancourt & Jenkins, foi encontrada sobre lima de umbigo (*Citrus aurantifolia* Sw.) (Cubatão), tangelo (*Citrus maxima* x *Citrus nobilis*) (Limeira) e satzuma (*Citrus nobilis unshiu* Sw.) (M'Boy).

As manchas de sol ou «escaldão» são de occorrencia frequente, principalmente nas fructas de laranjeira doce que foram pulverisadas com soluções de polysulfuretos de calcio ou de baryo (6). As pulverisações com emulsões mineraes causam manchas claras nas folhas e nas fructas.

Em pomelos de Limeira observaram-se manchas pardas, de natureza gommosa, no albedo, possivelmente relacionadas com uma queda anormal que se verificou nessas fructas (14). Em pomelos de Monteiros e outras regiões do Estado, foram constatadas manchas numerosas, pequenas, de aspecto gorduroso, pretas, semelhantes ás que são attribuidas a fungos do genero *Septoria* em outros paizes (15).

O feltro preto (*Septobasidium* sp., syn. *Peziotrichum saccardinum* Rangel) frequente, entre nós, sobre diversas arvores fructiferas da familia das Rosaceas e arvores de outras familias, foi constatado sobre limão cravo (*Citrus aurantifolia* Sw.), na Cantareira.

Em aphideos parasitas da laranjeira azeda foi observado, na Cantareira, o ataque do fungo *Cladosporium aphidis* THÜM., que parece contribuir com alguma efficiencia para baixar a infestação desses pulgões.

ABACATEIRO (8)

Persea americana BAUH.

Mosaico (produzido por virus?) sobre a variedade Martha, em Limeira.

Fuligem (*Stomiopeltis* sp.) sobre galhos, folhas e fructos, na Cantareira.

Lenticellose (Causa desconhecida) sobre fructas do commercio da Capital.

Mancha de carapaça das fructas, produzida pelo attricto da fructa nova sobre galhos e folhas.

Necrose internerval das folhas. Este mal, que á primeira vista se apresenta como uma doença de virus, é mais provavelmente o resultado da acção de pequenos acaros que vivem sob a face inferior das folhas (Cantareira, Campinas).

Podridão da fructa. O fungo designado por *Hendersonia* sp. numa relação anterior (2) e que causa uma podridão preta nas fructas, as quaes, em ambiente humido, se cobrem de uma pennugem de côr verde-azeitona, é com toda probabilidade a *Dothiorella ribis* (*Botryosphaeria ribis* GROSS & DUGGAR).

OUTRAS FRUCTEIRAS

ABACAXI (*Ananas sativus* SCHUL.). Podridão do topo: *Phytophthora* sp. (Itapira) (12).

CAJUEIRO (*Anacardium occidentale* L.) Mancha das folhas: *Verticillium* sp. (Campinas).

CASTANHEIRO (*Castanea vesca* GAERT.). Queima: *Corticium* sp. (Cantareira).

FIGUEIRA (*Ficus carica* L.). Podridão do fructo: *Colletotrichum gloeosporioides* PENZ. (Capital) (17).

GENIPAPO (*Genipa americana* L.). Anthracnose: *Sphaceloma genipae* BITANCOURT. (Cantareira) (9).

MACIEIRA (*Pirus malus* L.). Rubellose: *Corticium salmonicolor* B. & BR. (Jacarehy). Queima: *Corticium koleroga* (CK.) v. HÖHN. (Campos do Jordão).

MANGUEIRA (*Mangifera indica* L.). Mancha das folhas: *Leptosphaeria* sp. (Taubaté).

MARACUJA' (*Passiflora edulis* SIMS.). Verrugose: *Cladosporium* sp. (Itapira) (4).

PEREIRA (*Pirus communis* L.). Podridão secca do tronco: *Stilbum cinnabarinum* MONT. (Amparo).

LEGUMES, HORTALIÇAS E OUTRAS PLANTAS ALIMENTICIAS

CARA' (*Dioscorea batatas* L.). Mancha da folha: *Cercospora carbonacea* MILLES. (Cantareira).

MILHO (*Zea mays* L.). Podridão secca: *Diplodia zeae* (SCHW.) LÉV. (Campinas) Mancha preta das folhas: *Physoderma maydis* SHAW. (Campinas).

QUIABO (*Hibiscus esculentus* L.). Oidio: Oidium sp. (parasitado por *Cicinnobolus Cesatii* DE BY.) (Cantareira). Mancha dos fructos: *Ascochyta abelmoschi* HARTER. (Cantareira).

REPOLHO (*Brassica oleracea capitata* L.). Podridão preta: *Pseudomonas campestris* (PAM.) E. F. S. (Santo Amaro) (13).

TAIOBA (*Colocasia antiquorum* SCHOTT.). Mancha das folhas: *Cladosporium* sp. (Capital).

TOMATEIRO (*Solanum lycopersicum* L.). Os tomates postos á venda nas feiras e lojas da Capital apresentam frequentemente manchas anulares pallidas, amarellas ou verdes, feitas de um ou dois anneis concentricos, não raro parcialmente necrosados e deprimidos. A doença, que é visivelmente do grupo das de virus, apresenta alguma analogia com o *spotted wilt* dos autores de lingua ingleza. A julgar pela proporção crescente de fructas atacadas encontrada nos mercados, a mancha anular está-se desenvolvendo assustadoramente nas plantações dos arredores da cidade e do interior do Estado (5).

PLANTAS ORNAMENTAES

AMENDOEIRA DA PRATA (*Terminalia catappa* L.). Verrugose: *Sphaceloma terminaliae* BITANCOURT (Santos, São Vicente, Bertioga, Itanhaen) (9).

BUXO (*Buxus sempervirens* L.). Fumagina: *Capnodiale* (Cantareira).

CANELLA (*Nectandra Tweediei* MES.). Galhas pulverulentas: *Drepanoconis larviformis* SPEG. (Piracicaba).

CARVALHO (*Quercus* sp.). Oidio: *Oidium quercinum* THÜM. (Cantareira).

CEDRO ROSA (*Cedrela glaziovii* D. C.). Crostas pretas das folhas e dos galhos: *Phyllachora balansae* SPEG. (Cantareira).

CHOUPO (*Populus* sp.). Ferrugem: *Uredo* sp. (Cantareira).

CRYPTOMERIA (*Cryptomeria japonica* D. DON). Secca das agulhas: *Pestalozzia funerea* DESM. (Poá) (20).

FIGUEIRA DA INDIA (*Opuntia ficus-indica* MILL.). Crostas pretas: *Montagnella opuntiarum* SPEG. (Cantareira).

GERBERA (*Gerbera* sp.). Mancha das folhas: *Alternaria* sp. (Cantareira).

HORTENCIA (*Hydrangea* sp.). Oidio: *Oidium* sp. (Capital) Mancha das folhas: *Alternaria* sp. (Cantareira).

MALVA (*Malva parviflora* L.). Ferrugem: *Puccinia malvacearum* BERT. (Capital).

PIMENTEIRA (*Piper hydrangeifolium* KUNTH.). Mancha das folhas: *Cercospora piperis* PAT. (Capital).

PINHEIRINHO (*Podocarpus lamberti* KLOTZCH) Fungo preto: *Corynella brasiliensis* FITZPATRICK (Campos do Jordão).

QUARESMEIRA (*Tibouchina* sp.). Pintas pretas: *Bagnisiopsis* sp. (São Vicente).

ROSEIRA (*Rosa* spp. *cultae*) Anthracnose: *Sphaceloma rosarum* JENKINS (Santo Amaro, Capital).

VIOLETA (*Viola odorata* L.). Mancha das folhas: *Alternaria violae* G. & D. (Cantareira).

PLANTAS FORRAGEIRAS

GRAMINEAS: Ergot: *Claviceps paspali* STEVENS & HALL (sobre *Paspalum dilatatum* POIR.). (Capital) (19). Mancha das folhas: *Physoderma* sp. (sobre *Paspalum ? millegrana* SCHRAD) (Capital). Anthracnose: *Colletotrichum cereale* MANNS. (sobre *Paspalum ? urvillei* STEND.) (Capital). Falso carvão: *Helminthosporium raveneli* CURT. & BERK. (Sobre *Sporobolus tenacissimus* (L.) BEAUV.). (Capital).

CAPIM JARAGUA' (*Hyparrhenia rufa* (NEES) Stapf.). Falso carvão: *Cerebella andropogonis* CES., parasitando *Claviceps* sp. (Araçatuba) (21).

PLANTAS INDUSTRIAES

PINHEIRO DO PARANA' (*Araucaria brasiliana* LAMB.) Secca das folhas: *Polyrhizon* sp. (Cayeiras).

TUNG (*Aleurites Fordi* HEMSL.). Feltro preto: *Peziotrichum saccardium* RANGEL (Pirassununga). Fuligem: *Stomiopeltis* sp. (Limeira).

VIME (*Salix* sp.) Mancha das folhas: *Cercospora salicina* ELL. & EV. (Cantareira).

PLANTAS DIVERSAS

AMENDOIM BRAVO (*Euphorbia prunifolia repanda* RICH.). Verrugose: *Sphaceloma* sp. (Campinas, Limeira, Sorocaba, Jacarehy).

AMOREIRA (*Morus* sp.) Doença bacteriana: *Bacterium mori* BOYER & LAMBERT. (Campinas, Piracicaba, Cosmopolis) (16).

INGA' (*Ingá edulis* Mart.). Feltro preto: *Peziotrichum saccardinum* Rangel (Pirassununga).

FIGUEIRA VERMELHA (*Ficus* sp.) Crostas pretas das folhas: *Phyllachora effigurata* Syd. (Capital).

OFFICIAL DE SALA (*Asclepias curassavica* L.). Verrugose: *Sphaceloma* sp. (Andradas).

PINDAIBA (Cedro do Campo) (*Xylopia aromatica* (Lam.). Mart.) Ferrugem: *Aecidium xylopiae* P. Henn. (Mogy-Mirim).

ABSTRACT

A report of the diseases and of parasitic fungi observed at the Division of Plant Pathology of the Instituto Biologico of São Paulo during the years 1935 and 1936.

BIBLIOGRAPHIA

1 — Amaral, J. F. e J. G. Carneiro — 1936 — Mancha interna da nervura das folhas da bananeira. *O Biologico*. S. Paulo. 2: 287-288.

2 — Bitancourt, A. A. — 1934 — Relação das doenças e fungos parasitas observados na Secção de Phytopathologia durante os annos 1931 e 1932. *Arch. Inst. Biol.* S. Paulo. 5: 185-196.

3 — Bitancourt, A. A. — 1935 — Doenças do algodoeiro. *Inst. Biol. S. Paulo, Bol.* 80. 21 pp.

4 — Bitancourt, A. A. — 1935 — Uma nova doença do maracujá. *O Biologico*. S. Paulo. 1: 202-204.

5 — Bitancourt, A. A. — 1936 — A mancha anular do tomate. *O Biologico*. S. Paulo, 2: 98-100.

6 — Bitancourt, A. A. — 1936 — A mancha de sol ou «escaldão» das fructas citricas. *O Biologico*. S. Paulo. 2: 106.

7 — Bitancourt, A. A. — 1936 — A mancha estylar da laranja doce e da laranja cravo. *O Biologico*. S. Paulo. 2: 242.

8 — Bitancourt, A. A. — 1936 e 1937 — Doenças do abacateiro. *O Biologico*. S. Paulo. 2: 385-389, 419-425. 3: 3-10.

9 — Bitancourt, A. A. — 1937 — Novas especies de Sphaceloma sobre Terminalia e Genipa. *Arch. Inst. Biol.*, S. Paulo. 8: 197-200.

10 — Bitancourt, A. A., R. Drummond Gonçalves & J. C. Carneiro — 1936 — Relação das doenças e fungos parasitas observados na Secção de Phytopathologia durante os annos 1933 e 1934. *Arch. Inst. Biol.* S. Paulo. 6: 205-211.

11 — Bitancourt, A. A. and A. E. Jenkins — 1937 — Sweet orange fruit scab caused by Elsinoe australis. *Journ. Agric. Res.* Washington. 54: 1-18.

12 — Gonçalves, R. Drummond — 1935 — A podridão do tôpo do abacaxi. *O Biologico*. S. Paulo. 1: 162-163.

13 — Gonçalves, R. Drummond — 1935 — Podridão preta das cruciferas. *O Biologico*. S. Paulo. 1: 274-275.

14 — Gonçalves, R. Drummond — 1935 — Pomelos com manchas no albedo. *O Biologico*. S. Paulo. 1: 235-236.

15 — Gonçalves, R. Drummond — 1935 — Mancha preta do pomelo. *O Biologico*. S. Paulo. 1: 320-321.

16 — GONÇALVES, R. DRUMMOND — 1935 — Doença bacteriana da amoreira. *O Biologico.* S. Paulo. 1: 321-322.
17 — GONÇALVES, R. DRUMMOND — 1936 — Podridão do figo. *O Biologico.* S. Paulo. 2: 66.
18 — GONÇALVES, R. DRUMMOND — 1936 — A queda das maçãs do algodoeiro. *O Biologico.* S. Paulo. 2: 137-138.
19 — GONÇALVES, R. DRUMMOND — 1936 — O claviceps do paspalum. *O Biologico.* S. Paulo. 2: 138-139.
20 — GONÇALVES, R. DRUMMOND — 1936 — A secca das agulhas de cryptomeria. *O Biologico.* S. Paulo. 2: 242-243.
21 — GONÇALVES, R. DRUMMOND — 1937 — Cerebella andropogonis Cesati parasitando Claviceps sp. sobre varias Gramineas. *O Biologico.* S. Paulo. 3: 74-75.
22 — GONÇALVES, R. DRUMMOND — 1937 — Saporema. *O Biologico,* S. Paulo. 3: 302-305.
23 — GONÇALVES, R. DRUMMOND — 1937 — Sobre Polyporus sapurema Möller. *O Biologico.* S. Paulo. 3: 329.
24 — KRUG, H. P. — 1935 — Conhecimentos actuaes sobre a murcha do algodoeiro no Estado de S. Paulo. *Inst. Agron. Campinas. Bol. Techn.* 21. 11 pp.
25 — MOREIRA, E. — 1935 — Nova molestia das laranjeiras. *Rev. Citricola.* S. Paulo. 1: 12-13.
26 — SILBERSCHMIDT, K. — 1936 — O mosaico do fumo. *O Biologico.* S. Paulo. 2: 381-383.

———o———

Typographia Brasil
ROTHSCHILD & Cia.
R. 15 Novembro, 25
SÃO PAULO